

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE DARI BAKTERI
SIMBION YANG DIHASILKAN OLEH LARVA *COSSUS COSSUS*
DENGAN VARIASI SUMBER KARBON**



SKRIPSI

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat dalam Meraih Gelar Sarjana
Sains Jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh :

FARADILLAH DWI ARHANY

NIM. 60500109006

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN ALAUDDIN MAKASSAR
2013**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan penuh kesadaran, penyusun yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya penyusun sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, 2 Agustus 2013

Penyusun,

Faradillah Dwi Arhany
Nim: 60500109006

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Pembimbing penulisan skripsi Saudari Faradillah Dwi Arhany, NIM: 60500109006, mahasiswa Jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, setelah dengan seksama meneliti dan mengoreksi skripsi yang bersangkutan dengan judul “Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Simbion yang Dihasilkan oleh Larva *Cossus cossus* dengan Variasi Sumber Karbon” memandang bahwa skripsi telah memenuhi syarat ilmiah dan dapat disetujui untuk diajukan ke sidang *munaqasyah*.

Demikian persetujuan ini diberikan untuk diproses lebih lanjut.

Makassar, 29 Juli 2013

Pembimbing I

Pembimbing II

Maswati Baharuddin, S.Si, M.Si
NIP. 19780108 200604 2 001

Syamsidar, ST, M.Si
NIP. 19760330 200912 2 002

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT dengan berkat Rahmat dan hidayah-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini meskipun dalam bentuk sederhana. Salawat dan salam kepada Nabi Besar Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya. Selesaiannya skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penyusun mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Qadir Gassing H.T, M.S selaku Rektor UIN Alauddin Makassar beserta para pembantu rektor.
2. Bapak Dr. Muhammad Halifah Mustami, M.Pd selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar beserta pada pembantu dekan.
3. Ibu Maswati Baharuddin, S.Si, M.Si dan Ibu Syamsidar, ST, M.Si selaku Ketua dan Sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi.
4. Ibu Maswati Baharuddin, S.Si, M.Si dan Ibu Syamsidar, ST, M.Si selaku pembimbing pertama dan kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membantu penyusun dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Dra Sitti Chadijah, M.Si dan Ibu Aisyah, S.Si, M.Si selaku penguji yang telah banyak memberikan arahan dan masukannya dalam penulisan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikannya dengan baik.
6. Para Bapak/Ibu Dosen Jurusan Kimia dan para staf Fakultas Sains dan Teknologi yang senantiasa membimbing dan mendidik.

7. Ibunda Rahmadani, SP dan Ayahanda Abdullah Amiruddin yang selama ini telah banyak memberikan dukungan dan bantuan baik dukungan moril maupun materil.
8. Saudara-saudara penulis, Briptu Faisal Pratama Hakim, Fuad Tri Ansyahri dan Fiqri Catur Ramadhan serta keluarga besar penyusun.
9. Kanda Fitria Azis, S.Si, S.Pd selaku laboran Biokimia yang telah membimbing, mengarahkan, mengajarkan dan menemani peyusun selama melaksanakan penelitian sehingga skripsi ini akhirnya dapat tersusun.
10. Kepala Laboratorium serta laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi yang telah banyak membantu selama penelitian ini dilaksanakan.
11. Teman-teman Halogen angkatan '09, khususnya Rina Dwismar, Fitriani, Nurdia Asdar, Andi Nur Fitriani dan Izzahatifah yang selama ini selalu memberikan dukungan dan semangatnya selama penelitian dan penyusunan tugas akhir.
12. Teman-teman KKN-P angkatan 3, terkhusus Sani dan Hasan yang selalu ada untuk membantu.
13. Kak Ifil, kak Rizal, Rafa, kak Rival, kak Ririn serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu namanya di sini.

Sesungguhnya hanyalah milik Allah segala kesempurnaan, semoga penelitian yang masih belum sempurna ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan, Amin.

Billahi Taufiq wal Hidayah. Wassalamu Alaikum Wr. Wb.

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
 BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 9
C. Tujuan Penelitian 9
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Cossus</i> 10
B. Bakteri dalam Perspektif Al-Quran 15
C. Bakteri Selulolitik 24
D. Enzim Selulase 29
E. Selulosa 44
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. Waktu dan Tempat 48
B. Alat dan Bahan 48
C. Prosedur Kerja 49
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil 53
B. Pembahasan 55
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan 69
B. Saran 69
 DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR GAMBAR

2.1. <i>Cossus</i> Dewasa	10
2.2. Larva <i>Cossus</i>	12
2.3. Pupa <i>Cossus</i>	13
2.4. Proses Pemecahan Selulosa Menggunakan Kompleks Enzim Selulase .	33
2.5. Ikatan β -1,4 Glikosidik Pada Selulosa.....	46
4.1. Proses Pelarutan CMC.....	58
4.2. Grafik Aktivitas Selulase Terhadap Sumber Karbon	66



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

DAFTAR TABEL

4.1. Pertumbuhan Isolat Bakteri Larva <i>Cossus cossus</i>	53
4.2. Pengaruh sumber karbon terhadap konsentrasi glukosa.....	54
4.3. Pengaruh sumber karbon terhadap aktivitas enzim	54



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

ABSTRAK

Nama Penyusun : Faradillah Dwi Arhany
NIM : 60500109006
Judul Skripsi : “Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Simbion yang Dihasilkan Oleh Larva *Cossus cossus* dengan Variasi Sumber Karbon”

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji aktivitas enzim selulase dari larva *Cossus cossus* dengan variasi sumber karbon yang berasal dari desa Lejja kab. Soppeng. Isolat bakteri selulolitik dalam larva *Cossus cossus* diperoleh dengan cara mengisolasi usus dan saluran pencernaan larva menggunakan media padat yang mengandung CMC. Uji kualitatif untuk mengetahui isolat bakteri selulolitik dilakukan dengan menggunakan Congo Red 0,1 %. Enzim selulase yang dihasilkan bakteri selulolitik tersebut kemudian disentrifuge untuk memperoleh enzim ekstrak kasar, pengaruh variasi sumber karbon terhadap aktivitas enzim diuji secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa galaktosa ($7,7713 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$) merupakan sumber karbon yang memiliki aktivitas enzim selulase maksimum berturut-turut dengan glukosa ($4,7546 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$), sukrosa ($3,7759 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$), maltosa ($0,4343 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$), laktosa ($0,3491 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$) dan CMC ($0,3120 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$) sebagai sumber karbon yang memiliki aktivitas minimum terhadap enzim selulase yang telah diisolasi.

Kata Kunci: larva *Cossus cossus*, bakteri selulolitik, enzim selulase, variasi sumber karbon

ABSTRACT

Nama Penyusun : Faradillah Dwi Arhany
NIM : 60500109006
Judul Skripsi : “The Activity of Cellulose Enzyme Larvae *Cossus cossus* with Variations of Carbon Source”

This study aimed to isolate and test the activity of cellulose enzymes larvae *Cossus cossus* with variation of carbon source from the village Lejja, Soppeng. Cellulolytic bacterial isolates in larvae *Cossus cossus* obtained by isolating intestinal and digestive tract of larvae using solid media containing CMC. Qualitative test to determine cellulolytic bacterial isolates were performed using 0,1 % Congo Red. Cellulase enzymes produced cellulolytic bacteria are then centrifuged to obtain crude extract enzyme, the effect of carbon source variation of the enzyme activity was tested quantitatively using UV-Vis spectrophotometer. The results showed that galactose ($7,7713 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol/mL.menit}$) is the carbon source that has a maximum cellulose enzyme activity in a row with glucose ($4,7546 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol/mL.menit}$), sucrose ($3,7759 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol/mL.menit}$), maltose ($0,4343 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol/mL.menit}$), lactose ($0,3491 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol/mL.menit}$) and CMC ($0,3120 \times 10^{-3}$ $\mu\text{mol/mL.menit}$) as carbon source that has the minimum activity against cellulose enzymes have been isolated.

Keywords: larvae *Cossus cossus*, cellulolytic bacteria, cellulose enzyme, variations in carbon source

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Minyak bumi menjadi dasar kebutuhan hidup manusia, namun tingginya laju penggunaan minyak bumi tidak sebanding dengan laju pembentukan deposit minyak bumi di alam sehingga menyebabkan sumber energi ini akan mengalami masa krisis. Hal inilah yang menjadi dasar sehingga dibutuhkan pengembangan sumber bahan bakar alternatif dengan cadangan bahan bakar fosil yang terus berkurang. Bahan bakar alternatif yang diproduksi dengan tidak menggunakan bahan bakar fosil disebut biofuel.

Biofuel merupakan bahan bakar alternatif yang saat ini terus dikembangkan, biofuel dapat berupa derivat cair, padat atau gas yang berasal dari material biologi yang telah mati. Saat ini, biofuel didominasi oleh bioetanol, biobutanol, biodiesel dan biogas, tergantung dari substrat yang digunakan.¹ Produksi biofuel yang murah memerlukan glukosa sebagai substrat fermentasi. Sumber glukosa yang paling murah adalah dari pemecahan selulosa. Selulosa dihidrolisis menjadi mono-, di-, atau oligosakarida dengan menggunakan cara kimiawi dan hayati. Hidrolisis dengan cara kimiawi dengan menggunakan asam

¹Desire Barnard, *et. al.*, *Extremophiles in biofuel synthesis*, Environmental Technology, Vol. 31 No. 8-9 (16 Februari 2010), h. 872.

kuat, sedangkan dengan cara hayati dapat menggunakan enzim murni atau mikroorganisme penghasil enzim selulase.²

Selulase merupakan enzim yang mampu menguraikan selulosa dengan memutus ikatan β (1,4)-glikosida menghasilkan selobiosa kemudian diubah lagi menjadi monomer glukosa. Enzim ini dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu, seperti: moluska, rayap dan beberapa hewan memamah biak yang mengandung mikroba penghasil selulase.³

Selulase dilepaskan ke dalam substrat dan enzim bebas mulai menghidrolisis selulosa yang ada. Mikroorganisme mengambil glukosa dengan panjang maksimum empat molekul glukosa dan digunakan secara langsung atau dibelah lebih lanjut melalui hidrolisis intraseluler. Sebagian besar bakteri fakultatif anaerob yang menghasilkan sistem selulase non kompleks paling sering digunakan dalam produksi industri enzim selulolitik karena enzim yang disekresi dapat dengan mudah dipanen.⁴

Selulase disintesis di alam oleh sejumlah fungi dan bakteri. Mikroba ini memainkan peran utama dalam mengkonversi polisakarida yang kompleks menjadi gula (glukosa) sederhana dimana mereka berasimilasi. Mikroba pemecah selulase tersebar luas di alam dan mereka termasuk protozoa, fungi dan bakteri. Bakteri pengompos selulosa termasuk strain aerobik, anaerobik, mesofilik dan

²Khairil Anwar Syam, *Optimasi Produksi dan Aktivitas Enzim Selulase dari Mikroba Selulolitik Asal Rayap* (Skripsi Sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor, 2008), h. 1.

³Ari Widiyantoro, *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Rayap (*Reticulitermes flavipes*)* (Skripsi sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro, Semarang, 1999), h. 1.

⁴Lee R. Lynd, et. al., *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology*, Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol. 66 No. 3 (September 2002), h. 511.

termofilik, menghuni berbagai macam lingkungan seperti suhu, tekanan dan pH ekstrim. Bakteri selulolitik sendiri telah banyak diisolasi dari berbagai sumber yang berbeda, seperti tanah⁵, ladang pertanian di India⁶, kotoran sapi⁷ dan ekosistem air hitam⁸.

Banyak jasad renik, jamur dan beberapa protozoa mempunyai enzim-enzim yang mampu merombak selulosa menjadi glukosa. Salah satu insekta, yaitu rayap dapat mencerna selulosa karena saluran ususnya memiliki parasit *trichonympha* yang memproduksi enzim selulase. Pencernaan selulosa oleh hewan-hewan pemamah biak (herbivora) disebabkan oleh jasad renik atau flora usus di dalam sistem cerna hewan tersebut yang menghasilkan selulase.⁹

Insekta memainkan peran besar dalam mendaur ulang biomassa lignoselulosa, rayap merupakan salah satu serangga tanah paling penting yang efisien dalam menguraikan lignoselulosa dengan bantuan mikroba simbiosis terkait untuk membentuk gula yang lebih sederhana yang kemudian dapat difermentasi menjadi etanol menggunakan ragi.¹⁰ Mikroba ini memainkan peran penting dalam

⁵Muhammad Irfan, *et. al.*, *Isolation and Screening of Cellulolytic Bacteria from Soil and Optimization of Cellulase Production and Activity*, Turkish Journal of Biochemistry (30 September 2012), h. 287.

⁶Vipul Verma, Alpika Verma dan Akhilesh Kushwaha, *Isolation and Production of Cellulase Enzyme from Bacteria Isolated From Agricultural Fields in District Hardoi, Uttar Pradesh, India*, Pelagia Research Library, *Advances in Applied Science Research* (2012), h. 171.

⁷Saraswati Bai, *et. al.*, *Cellulase Production by Bacillus subtilis Isolated from Cow Dung*, Scholars Research Library, *Archives of Applied Science Research* (2012), h. 269.

⁸Fikrinda, *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulase Ekstremofilik dari Ekosistem Air Hitam* (Tesis Magister, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor, 2000), h. 1.

⁹Damin Sumardjo, *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta* (Jakarta, EGC: 2009), h. 230.

¹⁰Subodh K. Upadhyaya, *et. al.*, *Isolation and Characterization of Cellulolytic Bacteria from Gut of Termite*, *Rentech Symposium Compendium*, Vol. 1 (Maret 2012), h. 14.

mendegradasi selulosa dan juga memungkinkan beberapa serangga untuk mengeksploitasi substrat kaya selulosa yang mungkin tidak sesuai karena rendahnya kadar nitrogen dan nutrisi penting lainnya.¹¹ Penelitian terbaru mengarahkan pada isolasi bakteri yang bersimbion dalam tubuh rayap atau kumbang sejenis dimana bakteri selulolitik sendiri telah diisolasi dari serangga¹², rayap¹³, kumbang kayu¹⁴, larva kumbang cemara dan kumbang cemara dewasa¹⁵.

Insekta yang hidup di pohon dapat menghasilkan enzim selulase karena serat kayu pada pohon sebagian besar terdiri atas komponen lignoselulosa.¹⁶ Salah satu kelas insekta yang hidup dengan cara memakan kayu pada pohon adalah orde *Lepidoptera*. Genus *Cossus* termasuk dalam family *Cossidae* yang merupakan orde *Lepidoptera*, salah satu spesiesnya adalah *Cossus cossus* yang banyak hidup di pohon. *Cossus cossus* disebut juga ngengat kambing, mikroba pengurai yang terdapat pada ngengat kambing dapat berupa bakteri atau protozoa yang umumnya terdapat pada saluran pencernaan larva.¹⁷

¹¹Italo Delalibera, Jr, Jo Handelsman dan Kenneth F. Raffa, *Contrasts in Cellulolytic Activities of Gut Microorganisms Between the Wood Borer, Saperda vestita (Coleoptera: Cerambycidae), and the Bark Beetles, Ips pini and Dendroctonus frontalis (Coleoptera: Curculionidae)*, Environmental Entomology, Vol. 34, No. 3 (2005), h. 541.

¹²Jonathan D. Willis, Cris Oppert and Juan L. Jurat-Fuentes, *Methods for Discovery and Characterization of Cellulolytic Enzymes from Insects*, Department of Entomology and Plant Pathology, Journal compilation, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences (2010), h. 184.

¹³Khairil Anwar Syam, *loc. cit.*

¹⁴Italo Delalibera, Jr, Jo Handelsman dan Kenneth F. Raffa, *loc. cit.*

¹⁵Archana Vasanthakumar, *et. al.*, *Characterization of Gut-Associated Bacteria in Larvae and Adults of the Southern Pine Beetle, Dendroctonus frontalis Zimmermann*, Entomological Society of America, Vol. 35, No. 6 (Desember 2006), h. 1710.

¹⁶Tresnawati Purwadaria, *et. al.*, *Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap*, Balai Penelitian Ternak Departemen Kimia FMIPA IPB, JITV vol. 8 no. 4 (4 November 2003), h. 213.

¹⁷Tresnawati Purwadaria, *et. al.*, *op. cit.*, h. 214.

Ngengat kambing (*Cossus cossus*) adalah ngengat dari keluarga *Cossidae* yang ditemukan di Eropa. Ngengat berat ini memiliki badan besar dengan lebar sayap sekitar 68-96 mm. Sayapnya berwarna coklat keabu-abuan dengan garis silang gelap. Ngengat terbang sejak April hingga Agustus tergantung dari lokasi ngengat tersebut berada. Ulat *Cossus cossus* memakan batang dan cabang dari berbagai pohon dimana dibutuhkan waktu sekitar tiga atau empat tahun untuk menjadi dewasa.¹⁸

Insekta yang menggigit kayu sebagai makanannya juga telah dibahas dalam Al-Quran. Allah berfirman dalam Q.S Saba`/34 : 14.

فَلَمَّا قَضَيْنَا عَلَيْهِ الْمَوْتَ مَا دَلَّهُمْ عَلَىٰ مَوْتِهِ إِلَّا دَابَّةُ الْأَرْضِ تَأْكُلُ مِنسَأَتَهُ فَلَمَّا خَرَّ تَبَيَّنَتِ الْجِنَّ أَن لَوْ كَانَُوا يَعْلَمُونَ الْغَيْبَ مَا لَبِثُوا فِي الْعَذَابِ الْمُهِينِ (١٠٤)

Terjemahnya :

*Maka ketika Kami telah menetapkan kematian atasnya (Sulaiman), tidak ada yang menunjukkan kepada mereka kematiannya itu kecuali rayap yang memakan tongkatnya. Maka ketika dia telah tersungkur, tahulah jin itu bahwa sekiranya mereka mengetahui yang gaib tentu mereka tidak tetap dalam siksa yang menghinakan.*¹⁹

Saat nabi Sulaiman meninggal, ia duduk terpaku dalam posisi memegang tongkat selama kurun waktu yang cukup lama. Hal ini sebagaimana dikemukakan oleh Ibnu `Abbas, Mujahid, al-Hasan al-Bashri, Qatadah dan para ulama lainnya, bahwa kematiannya tidak diketahui dalam waktu yang lama, yakni sekitar setahun. Ketika tongkat yang menopang Nabi Sulaiman itu telah digerogeti rayap, tongkat itu pun lama kelamaan rapuh dan roboh, sehingga Nabi Sulaiman jatuh

¹⁸“Ngengat kambing”, *Wikipedia the Free Encyclopedia*. http://en.wikipedia.org/wiki/Cossus_cossus (26 Januari 2013).

¹⁹Departemen Agama Republik Indonesia, *Al-Quran dan Terjemahannya* (Jakarta: DEPAG, 2002), h. 430.

tersungkur. Mereka baru tahu bahwa Nabi Sulaiman telah meninggal cukup lama sebelum tongkat itu roboh. Saat itu, baik jin atau pun manusia menjadi sadar bahwa jin ternyata tidak mengetahui hal-hal ghaib, sebagaimana yang selama ini mereka perkirakan dan mereka tunjukkan kepada manusia.²⁰

Ayat-ayat yang lalu menggambarkan betapa besar anugerah Allah kepada Nabi Sulaiman, serta betapa luas kekuasaan yang dilimpahkan kepadanya. Ini boleh jadi mengantar seseorang menduga bahwa hidupnya akan kekal, karena ayat di atas melukiskan kematiannya dan betapa mudah Allah mencabut nyawanya. Sekaligus menunjukkan betapa lemahnya jin dan betapa banyak dugaan orang menyangkut makhluk ini yang tidak benar.²¹

Allah berfirman: Demikianlah keadaan Nabi Sulaiman as. memerintah manusia dan jin, dan itu berlanjut sekian lama *lalu tatkala Kami telah menetapkan kematian atas diri Sulaiman, tidak ada yang menunjukkan kepada mereka* yakni para jin yang bekerja atas perintahnya itu dan yang diduga orang mengetahui yang ghaib, tidak ada yang menunjukkan *kematiannya itu kecuali rayap yang memakan* yakni menggerogoti *tongkat* yang digunakan oleh Nabi Sulaiman sebagai sandaran-nya berdiri saat maut menjemputnya. Setelah digerogeti sedikit demi sedikit dan tongkat itu menjadi lapuk jatuh tersungkurlah Nabi Sulaiman *maka tatkala ia telah tersungkur, tahulah jin* ketika itu saja bahwa Nabi Sulaiman telah

²⁰Team Ahli Tafsir di Bawah Pengawasan Syaikh Shafiyyurrahman al-Mubarakfuri, *Shahih Tafsir Ibnu Katsir Cet. 3 Jilid 7* (Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, Agustus 2010), h. 403.

²¹M. Quraish Shihab, *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan dan Kerasian Al-Quran)* vol. 11 (Jakarta: Lentera Hati, 2002), h. 360.

wafat.²² Seperti yang kita ketahui tongkat terbuat dari kayu dimana kayu mengandung komponen lignoselulosa yang hanya dapat diuraikan oleh enzim selulase. Rayap (insekta) yang memakan tongkat Nabi Sulaiman as. secara tidak langsung menunjukkan bahwa dalam tubuh rayap tersebut terdapat bakteri yang dapat menguraikan serat selulosa.

Semua ciptaan Allah memiliki manfaat dan harus dimanfaatkan karena dengan terungkapnya rahasia-rahasia alam melalui hasil penelitian ini akan mempertebal keimanan kepada Allah sebagai pencipta alam semesta ini, juga akan menambah khazanah pengetahuan tentang alam untuk dimanfaatkan demi kesejahteraan umat manusia, dengan meneliti ciptaan Allah yang ada di alam semesta ini.²³

Bakteri simbiosis yang terdapat dalam tubuh larva *Cossus cossus* dapat diisolasi menggunakan media yang sesuai. Medium yang diharapkan adalah medium yang memungkinkan isolat dapat tumbuh dengan baik dan memberikan penampakan bahan genetik yang maksimum.²⁴ Medium tersebut harus berisi unsur-unsur hara makro dan mikro, seperti sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, sumber garam-garam anorganik dan bahan tambahan untuk beberapa bakteri tertentu seperti vitamin bakteri.²⁵ Sumber karbon ikut memainkan peran penting terhadap medium yang digunakan, termasuk pada isolasi enzim selulase

²²*Ibid*

²³M.K. Abdushshamad, *Mukjizat Ilmiah dalam Al-Quran* (Jakarta: Akbar Media Eka Sarana, 2003), h. 221.

²⁴Nur Hidayat, Masdiana C. Padaga dan Sri Suhartini, *Mikrobiologi Industri* (Yogyakarta: ANDI, 2006), h. 16.

²⁵Koes Irianto, *Mikrobiologi "Menguak Dunia Mikroorganisme"* (Bandung: Yrama Widya, 2006), h. 122.

pada bakteri selulolitik. Perbedaan sumber karbon akan memberikan hasil berbeda terhadap pertumbuhan bakteri dan aktivitas enzim dimana pada penelitian sebelumnya produksi selulosa maksimum ditemukan dalam galaktosa menggunakan bakteri *Bacillus pumilus* EWBCM1²⁶, laktosa pada *Bacillus subtilis*²⁷, CMC pada *T. harzianum*²⁸ dan laktosa pada *T. reesei*²⁹.

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas maka dilakukan penelitian mengenai isolasi bakteri simbiosis penghasil selulase pada larva *Cossus cossus* serta menguji aktivitasnya terhadap sumber karbon yang berbeda.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka permasalahan utama dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ada isolat bakteri penghasil selulase dari larva *Cossus cossus* ?
2. Bagaimana pengaruh variasi sumber karbon terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis larva *Cossus cossus* ?

²⁶Shankar dan L. Isaiarasu, *Cellulase Production by Bacillus pumilus* EWBCM1 under Varying Cultural Conditions, Middle-East Journal of Scientific Research 8 (1) : 40 -45 (2011), h. 41.

²⁷Saraswati Bai, *et. al.*, *loc. cit.*

²⁸Subtain Ahmed, *et. al.*, *Production and Purification of Cellulose-Degrading Enzymes From A Filamentous Fungus Trichoderma Harzianum*, Molecular Biochemistry Lab., Department of Chemistry and Biochemistry, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan (2009), h. 1415.

²⁹Mehdi Dashtban, Robert Buchkowski dan Wensheng Qin, *Effect of Different Carbon Sources on Cellulase Production by Hypocrea jecorina (Trichoderma reesei) strains*, Biorefining Research Initiative, Lakehead University, Canada (30 September 2011), h. 278.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui apakah ada isolat bakteri penghasil selulase dari larva *Cossus cossus*.
2. Mengetahui pengaruh variasi sumber karbon terhadap aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri simbion larva *Cossus cossus*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Cossus*

Cossus merupakan salah satu genus dari kingdom animalia, *Cossus* merupakan ngengat yang biasanya hidup di pohon. Salah satu jenis *Cossus* adalah *Cossus cossus*, klasifikasi dari *Cossus cossus* sendiri dapat dilihat di bawah ini.

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Arthropoda*
Class : *Insecta*
Order : *Lepidoptera*
Family : *Cossidae*
Genus : *Cossus*
Species : *C. cossus*



Gambar 2.1. *Cossus* dewasa

Cossidae terdapat di seluruh dunia dengan lebih dari 670 spesies. Sejumlah besar ditemukan di daerah tropis.³⁰ Terdapat 34 spesies di Borneo tapi hanya 7 di Jepang. *Cossidae* mencakup banyak spesies ulat besar dan ngengat dengan sayap hingga 17 cm. Banyak ulat yang memiliki bau tidak sedap sehingga dinamakan ngengat kambing. Sebagian besar adalah ulat penggerek pohon. Ulat ini bisa memakan waktu hingga tiga tahun untuk menjadi dewasa.³¹

³⁰Team of BAMONA, *Cossidae*. www.butterfliesandmoths.org/taxonomy/Cossidae

³¹Don Herbison-Evans dan Stella Crossley. *Cossidae of Australia (Wijuti, Witchety or Witchetty Grubs, Goat Moths, Carpenter Moths, Wood Moths, Borers)*. Lepidoptera.butterflyhouse.com.au/coss/cossidae.html

Ulat melubangi batang berbagai pohon dan memakan kayu, karena periode pencernaan panjang yang diperlukan dalam makanan, larva sering hidup lama sebelum menjadi pupa. *Cossidae* dewasa terbang pada bulan Juni dan Juli dimana diantaranya yang terberat adalah ngengat Inggris yang tersebar secara luas di Selatan dan semakin langka ke arah utara Inggris.³²

Cossus cossus menghasilkan bau yang sangat tajam dimana larva dapat menembus jauh ke dalam kayu dan bahkan mengebor ke dalam batang kayu. Pohon-pohon tertentu seperti elm sangat resisten terhadap ngengat ini. Pohon buah-buahan, terutama apel dan ceri lebih sensitif sehingga dapat mati dengan cepat.³³

1. Karakteristik *Cossus* Dewasa

Ngengat dewasa biasanya besar dan memanjang, sayap depan tipis dan sayap belakang yang lebih pendek. Tanda-tanda sayap biasanya samar, kulitnya bergaris gelap. Perut panjang yang memperlihatkan panjangnya sayap depan. Antena jantan biasanya unipektinat atau bipektinat. Pada alat kelamin jantan, uncus biasanya luas dan berkembang dengan baik, alat kelamin betina memiliki lobus ovipositor yang ramping.³⁴

Ngengat dewasa memiliki sayap dengan lebar dari 70 sampai 80 mm, berwarna abu-abu dengan tubuh besar yang ditutupi rambut. Sayap depan berwarna putih dan sayap belakang berwarna abu-abu. Kepala, dada dan perut

³²Ian Kimber, *Goat Moth Cossus cossus*. ukmoths.org.uk/show.php?id=977

³³Alain Fraval, *Goat moth, Willow borer*. www7.infra.fr/hyppz/RAVAGEUR/6cocos.htm

³⁴Southdene Sdn, *The Moths of Borneo part 1*, vol. 40 no.1 dan 2 (Malaysia: Malayan Nature Journal, 1986), h. 1.

memiliki warna abu-abu yang serupa. Ngengat terbang pada sore hari dan pada malam hari di awal musim panas.³⁵

2. Karakteristik Larva *Cossus*

Telur *Cossus cossus* disisipkan diantara celah-celah kulit kayu dimana perkembangan embrio telur berlangsung selama 12 sampai 15 hari. Larva Cossid memiliki karakteristik yang mencerminkan cara hidup mereka, mengebor pada kayu dan batang. Kepala besar, lebih panjang dan lebar dengan rahang besar. Prothorax berbentuk seperti plat yang khas atau perisai yang memiliki ekor margin halus pada *Cossus*.³⁶



Gambar 2.2. Larva *Cossus*

Panjang larva mulai dari 90 sampai 100 mm. Ulat muda berwarna merah muda, warna lebih gelap dan lebih jelas pada ulat yang lebih tua. Permukaan ventral berwarna kuning muda, kepala berwarna hitam dan mengkilap dengan rahang yang kuat. Kelenjar bergabung ke mulut untuk mengeluarkan zat yang sangat bau, mirip dengan bau kulit tua atau anggur dengan kualitas buruk.³⁷

³⁵Alain Fraval, *loc. cit.*

³⁶Southdene Sdn, *loc.cit.*

³⁷Alain Fraval, *loc. cit.*

Larva yang telah cukup umur kemudian menjadi pupa dengan panjang dari 50 sampai 60 mm dengan speculum tajam yang memungkinkannya untuk bergerak sebelum menjadi ngengat dewasa. Tahap pupa berlangsung sekitar 1 bulan, ngengat dewasa muncul dibelakang exuvia, siklus ngengat kambing memakan waktu setidaknya 2 tahun. Ngengat muncul dari akhir Juni sampai pertengahan Agustus.³⁸



Gambar 2.3. Pupa *Cossus*

3. Pohon Inang

Ulat berkembang di batang-batang pohon berbagai buah, seperti apel, ceri, zaitun dan daun pohon lainnya seperti kastanye manis, elm (*Ulmus*), oak (*Quercus*), poplar (*Populus*), kapur (*Tilia*) dan maple (*Acer*).³⁹ Salah satu pohon yang ditumbuhi *Cossus cossus* di daerah Sulawesi adalah pohon matoa.

Matoa merupakan tumbuhan buah khas Papua. Kayunya tergolong kelompok *veneer* dan dimanfaatkan sebagai bahan kusen rumah; bagian kulit batang dan daun sebagai obat luka dan eksim. Variabilitas matoa telah direvisi dengan satu tipe *P. pinnata* Forst., berumah satu dalam suku Sapindaceae; tersebar di seluruh kawasan Malesia hingga Kepulauan Pasifik. Karakter morfologinya masih diperdebatkan karena variasinya cukup tinggi pada pola,

³⁸*ibid.*

³⁹*Ibid.*

bentuk dan ukuran serta warna pada bagian akar, batang dan daun, sehingga di Papua, penebang pohon membedakan pada tingkat jenis, yaitu *P. pinnata* Forst., *P. acuminata* Radlk, *P. tomentosa* Radlk. dan *P. coriacea* Radlk. Selain itu, keterbatasan material generatif bergantung pada musim dan distribusi geografis yang luas menjadi beberapa kelemahan dalam identifikasi morfologi, sehingga diperlukan pendekatan lain.⁴⁰

Matoa tersebar luas di seluruh hutan dataran rendah Papua. Terdapat 3 kultivar matoa, yaitu Kelapa, Papeda dan Kenari. Tegakan matoa di Jayapura tumbuh dan berasosiasi dengan pohon sagu (*Metroxylon sago*) pada ketinggian 10-50 mdpl, topografi datar, jenis tanah *alluvial* dan curah hujan rata-rata 2480 mm/tahun. Di luar habitat aslinya, pertumbuhan pohon matoa yang terbaik pada ketinggian 0-120 m dpl; di hutan lindung Cyclop mulai dari ketinggian 50-70 m dpl dan berasosiasi dengan *Intsia* sp. , *Planconella* sp. dan *Palaquium* sp. (jenis-jenis dari suku Meliaceae). *P. pinnata* Forst. (*taun*) merupakan jenis yang khas hutan hujan dataran rendah di bawah ketinggian 500 m dpl dan jarang yang mencapai 1000 m dpl, namun ditemukan di Aceh pada ketinggian 1700 m dpl. Tumbuh pada batu kapur, tanah liat, tanah berpasir atau tanah bersifat lempung.⁴¹

B. Bakteri dalam Perspektif Al-Quran

Al-Quran merupakan qalam Ilahi yang diturunkan kepada Rasulullah SAW, surah-surah yang terdapat di dalam Al-Quran bukan hanya menjelaskan

⁴⁰Hengky Lukas Wambrau, *Karakterisasi Morfologi dan Isozim Matoa (Pometia pinnata forst.)* (Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 2011), h. 1.

⁴¹*Ibid*, h. 7.

mengenai kekuasaan Allah SWT dan ajaran agama, melainkan juga berisi mengenai ilmu dan fenomena yang terjadi di alam semesta. Di antara surah-surah Allah tersebut, ada beberapa surah yang menjelaskan mengenai makhluk hidup yang ada di dunia, seperti contohnya surah An-Naml yang berbicara mengenai semut, Al-`Ankabut mengenai laba-laba serta Al-Fil mengenai gajah. Selain itu dikenal pula surah An-Nahl, dalam surah ini Allah memberikan penjelasan mengenai lebah yang memiliki banyak fungsi dalam kehidupan manusia, baik itu madunya yang dapat dijadikan obat dan sengatannya yang dapat mengobati.

Lebah dapat menghasilkan madu di dalam sarangnya dimana sarang tersebut dapat tumbuh di beberapa tempat seperti yang dijelaskan dalam Q.S An-Nahl ayat 68, Allah menjelaskan mengenai lebah yang berbunyi :

وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ (٦٨)

Terjemahnya :

Dan Tuhanmu mengilhamkan kepada lebah, "Buatlah sarang di gunung-gunung, di pohon-pohon kayu, dan di tempat-tempat yang dibuat manusia."⁴²

Yang dimaksud dengan mengilhamkan pada ayat di atas ialah memberi petunjuk dan hidayah kepada lebah supaya menjadikan bukit-bukit sebagai tempat yang mereka diam, juga di pohon-pohon dan tempat-tempat yang dibuat manusia. Lalu sarang-sarang itu dibuat dengan sangat teliti dengan penuh ketekunan. Mereka menyusun dan menatanya yang terdiri dari sel-sel yang berbentuk segi enam, tanpa ada bagian yang salah pada sarang-sarang itu.⁴³ Pemilihan segi itu,

⁴²Departemen Agama Republik Indonesia, *Al-Quran dan Terjemahannya* (Jakarta: DEPAG, 2002), h. 275.

⁴³Team Ahli Tafsir di Bawah Pengawasan Syaikh Shafiyyurrahman al-Mubarakfuri, *Shahih Tafsir Ibnu Katsir* (Cet. 4 Jilid 5; Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, Februari 2011), h. 212.

disamping untuk memanfaatkan semua ruangan, juga bertujuan menghindari adanya celah bagi masuknya serangga dan sebagainya. Pada permukaan lubang-lubang bersegi enam itu, lebah-lebah tersebut menutupnya dengan suatu cairan yang hampir membeku yang merupakan selaput yang sangat halus. Cairan yang serupa dengan lilin itu dan terdapat diperut lebah diangkatnya dengan kaki-kakinya ke mulutnya, lalu dikunyah dan diletakkan sebagian darinya untuk merakit lubang-lubang segienam tersebut sehingga madu tidak tertumpah.⁴⁴

Dengan perintah Allah SWT kepada lebah yang mengantarnya memiliki naluri yang demikian mengagumkan, lebah dapat melakukan aneka kegiatan yang bermanfaat dengan sangat mudah, bahkan bermanfaat untuk manusia. Sungguh mengagumkan, itulah naluri yang diilhamkan Allah kepadanya.⁴⁵ Lebah yang dimaksud dalam ayat tersebut termasuk dalam kingdom animalia, kelas Insekta dimana berdasarkan ayat tersebut lebah dapat membuat sarang salah satunya di pohon-pohon kayu. Pohon kayu tempat lebah membuat sarang mengandung komponen lignoselulosa, komponen lignoselulosa dalam kayu terdiri dari selulosa, lignin dan hemiselulosa. Komponen lignoselulosa dalam pohon kayu tersebut dapat dijadikan substrat untuk produksi biofuel, yaitu bahan bakar generasi baru. Substrat ini merupakan substrat penghasil glukosa yang paling murah untuk memproduksi biofuel, biofuel yang diperoleh dari hidrolisis komponen berlignoselulosa dapat dijadikan sumber energi.

⁴⁴M. Quraish Shihab, *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran)* vol. 7 (Jakarta: Lentera Hati, 2002), h. 285.

⁴⁵*Ibid*, h. 283-284.

Sebelum dikenalnya biofuel sebagai sumber energi (sumber bahan bakar), manusia memanfaatkan bahan bakar fosil dan minyak yang diperoleh dari hasil ekstraksi tumbuhan. Salah satu ayat Allah yang menjelaskan mengenai penggunaan minyak sebagai sumber energi dijelaskan dalam Q.S An Nuur/24 : 35.

اللَّهُ نُورُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ مِثْلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ نُورٌ عَلَى نُورٍ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَنْ يَشَاءُ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ لِلنَّاسِ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ (٣٥)

Terjemahnya :

*Allah adalah cahaya bagi langit dan bumi. Perumpamaan cahaya-Nya adalah seperti lubang yang di dalamnya ada pelita. Pelita itu dalam kaca. Dan kaca itu laksana bintang yang berkilauan yang dinyalakan dengan minyak pohon yang diberkati, yaitu minyak zaitun yang tumbuh tidak disebelah timur dan juga tidak di barat. Minyaknya hampir menerangi sekalipun tidak disentuh dengan api. Cahaya di atas cahaya. Allah memberi petunjuk kepada cahayaNya kepada siapa yang dikehendakiNya. Allah membuat perumpamaan-perumpamaan bagi manusia dan Allah Maha Mengetahui segala sesuatu.*⁴⁶

Zaitun merupakan nama sebuah pohon yang diberkahi, Sa'id bin Jubair berkata, "Ia adalah minyak terbaik." Ia melanjutkan, "Bila matahari terbit, ia dapat menyinari pohon itu, mengingat matahari berada di sebelah timur. Bila matahari tenggelam, ia pun dapat menyinari pohon itu. Dengan demikian, matahari dapat menyinarinya, baik di pagi atau pun di sore hari. Jadi, pohon tersebut tidak (dikatakan) berada di bagian timur dan tidak pula di bagian barat (dari sesuatu). Selanjutnya Allah berfirman, "Yang minyaknya (saja) hampir-hampir menerangi,

⁴⁶Departemen Agama Republik Indonesia, *op. cit.*, h. 355.

walau pun tidak disentuh api.” Abdurrahman bin Zaid bin Aslam berkata, “Yakni disebabkan kuatnya energi cahaya dari minyak itu.”⁴⁷

Kalau disimak ayat di atas, ayat-ayat Al-Quran dicerminkan sebagai nur Ilahi pada langit dan bumi, akan tetapi terkandung juga penjelasan fungsi minyak yang dapat memberikan energi berupa nyala api (pelita), manakala minyak tersebut dinyalakan (dibakar). Sebelum ditemukannya listrik untuk penerangan, manusia pada waktu dulu memakai minyak untuk bahan bakar obor atau pelita yang didapatkannya dari minyak (lemak) hewan yang khusus diambil minyaknya.⁴⁸ Namun minyak tersebut tidak dapat di daur ulang, selain minyak yang diperoleh dari hewan dan tumbuhan tidak efisien, mengembangbiakkan dan menumbuhkan tanaman juga memerlukan waktu yang lama dan tidak mudah untuk melakukannya. Selain karena alasan tersebut, bahan bakar fosil yang saat ini digunakan sebagai sumber energi juga lambat laun semakin berkurang. Hal inilah yang mendesak manusia untuk mencari sumber bahan bakar alternatif.

Bahan bakar alternatif yang ditemukan berasal dari material biologi yang telah mati, bahan bakar ini disebut biofuel. Seperti yang diketahui substrat yang paling murah untuk produksi biofuel berasal dari pemecahan selulosa. Hidrolisis selulosa dapat dilakukan dengan dua cara, salah satunya dengan cara hayati menggunakan enzim murni atau mikroorganisme penghasil enzim selulase. Disebut mikroorganisme karena makhluk hidup ini memiliki ukuran yang sangat kecil, banyak ayat-ayat Al-Quran yang menjelaskan mengenai mikroorganisme

⁴⁷Team Ahli Tafsir di Bawah Pengawasan Syaikh Shafiyyurrahman al-Mubarakfuri (Cet. 3 Jilid 5, Agustus 2010), h. 397.

⁴⁸Wisnu Arya Wardhana, *Al-Quran dan Teori Einstein “Melacak Teori Einstein dalam Al-Quran”* (Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2009), h. 34.

secara tersirat. Namun penemuan mengenai mikroorganisme baru ditemukan setelah ditemukannya mikroskop. Salah satu ayat yang menjelaskan mengenai mikroorganisme terdapat dalam Q.S Al- Mudatsir ayat 4.

وَتِيَابَكَ فَطَهِّرْ (٤)

Terjemahnya :

*Dan bersihkanlah pakaianmu.*⁴⁹

Muhammad bin Sirin berpendapat bahwa artinya cucilah pakaianmu dengan air. Ibnu Zaid berkata, “Dahulu orang-orang musyrik tidak bersuci, maka Allah memerintahkan mereka untuk bersuci dan membersihkan pakaian.” Ini adalah pendapat yang dipilih oleh Ibnu Jarir.⁵⁰

Semua pemeluk agama, apapun agamanya, lebih-lebih lagi Islam menyadari bahwa agama pada dasarnya menganjurkan kebersihan batin seseorang. Membersihkan pakaian tidak akan banyak artinya jika badan seseorang kotor; selanjutnya membersihkan pakaian dan badan belum berarti jika jiwa masih ternodai oleh dosa. Lebih jauh dapat dikatakan bahwa pengertian hakiki tersebut mengantar kepada keharusan memperhatikan kebersihan badan dan jiwa, jangankan jiwa atau badan, pakaian pun diperintahkan untuk dibersihkan. Dalam ayat keempat ini yang ditekankan adalah penampilan lahiriah demi menarik simpati mereka yang diberi peringatan dan bimbingan.⁵¹

Islam menetapkan tujuan pokok kehadirannya untuk memelihara agama, jiwa, akal, jasmani, harta dan keturunan. Hal yang disebut ini berkaitan dengan

⁴⁹Departemen Agama Republik Indonesia, *op. cit.*, h. 576.

⁵⁰Team Ahli Tafsir di Bawah Pengawasan Syaikh Shafiyyurrahman al-Mubarakfuri (Cet. 4 Jilid 9, Januari 2011), h. 361.

⁵¹M. Quraish Shihab, *op. cit.* vol. 14, h. 555.

kesehatan, kesehatan merupakan hal yang penting dalam pandangan Islam. Pakaian merupakan salah satu hal yang harus selalu diperhatikan kebersihannya terutama pakaian yang digunakan untuk beribadah, hal ini berkaitan dengan kesehatan karena pada pakaian sering menempel kotoran yang mengandung mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit sehingga dalam surah Al-Mudatsir ayat 4 Allah memerintahkan kepada kita untuk membersihkan pakaian yang kita gunakan.

Allah SWT tidak secara langsung memberitahukan kepada kita mengenai mikroorganisme tetapi melalui ayat di atas kita dapat mengetahui bahwa mikroorganisme dapat menempel pada pakaian yang digunakan sehingga dapat menyebabkan penyakit, mikroorganisme tersebut berukuran sangat kecil sehingga tidak dapat terlihat secara kasat mata. Dewasa ini, telah dikenal beberapa jenis mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri. Bakteri dapat ditemukan hampir di semua tempat: di tanah, air, udara, dalam simbiosis dengan organisme lain maupun sebagai parasit (patogen). Bakteri ada yang bersifat menguntungkan, namun banyak juga yang merugikan manusia.

Di dalam Al-Quran juga telah disebutkan mengenai bakteri, salah satu jenis mikroorganisme yang memiliki ukuran sangat kecil sehingga dapat masuk ke dalam tubuh dan menyebabkan penyakit. Allah berfirman dalam Q.S Al-Anbiya/ 21 : 74.

وَلَوْ طَآءَنَّا هُكْمًا وَعِلْمًا وَنَجَّيْنَاهُ مِنَ الْقَرْيَةِ الَّتِي كَانَتْ تَعْمَلُ الْخَبَائِثَ إِنَّهُمْ كَانُوا قَوْمَ سَوْءٍ
فَاسِقِينَ (٧٤)

Terjemahnya :

*Dan kepada Luth, Kami telah berikan hikmah dan ilmu dan Kami telah menyelamatkannya dari (azab yang menimpa penduduk) kota yang mengerjakan perbuatan keji. Sesungguhnya mereka adalah kaum yang jahat lagi fasik.*⁵²

Ayat ini berbicara tentang anugerah Allah kepada Nabi Luth as., serta penyelamatan beliau dari gangguan masyarakatnya, Ayat ini menyatakan bahwa:

*Dan kepada Luth, Kami telah berikan kemampuan menetapkan hukum, atau hikmah, yakni kemampuan memilih yang terbaik dan menerapkannya atau kenabian dan juga Kami anugerahi ilmu yang bermanfaat, dan Kami telah menyelamatkannya dari siksa yang menimpa kota Sadum yang penduduknya mengerjakan perbuatan keji, yakni homoseksual. Penduduk negeri itu Kami binasakan karena sesungguhnya mereka adalah kaum yang jahat karena melakukan kemungkaran yang bertentangan dengan fitrah manusia normal lagi fasik, yakni keluar dari batas-batas moral dan ajaran agama.*⁵³

Allah memberi hikmah dan ilmu kepada Luth, serta memberinya wahyu dan menjadikannya sebagai Nabi yang diutus-Nya kepada bangsa Sadum untuk memperbaiki amal perbuatan mereka. Tetapi mereka menentang dan mendustakannya. Kemudian Allah membinasakan dan menghancurkan mereka.⁵⁴

Azab yang ditimpakan kepada kaum Luth adalah berjangkitnya penyakit akibat perbuatan yang menyimpang dan dosa. Sekarang diketahui perbuatan seperti kaum Luth dahulu itu menimbulkan penyakit dengan kuman

⁵²Departemen Agama Republik Indonesia, *op. cit.*, h. 329.

⁵³M. Quraish Shihab, *op. cit.* vol. 8, h. 483.

⁵⁴Team Ahli Tafsir di Bawah Pengawasan Syaikh Shafiyyurrahman al-Mubarakfuri (Cet. 3 Jilid 6, Agustus 2010), h. 52.

(mikroorganisme) berupa bakteri dan virus.⁵⁵ Melalui ayat ini, Allah secara tersirat menyampaikan bahwa terdapat makhluk yang memiliki ukuran yang sangat kecil yang saat ini disebut dengan mikroorganisme (bakteri dan virus), ukurannya yang sangat kecil itu membuatnya dapat masuk ke dalam tubuh manusia.

Ayat-ayat dalam Al-Quran sesungguhnya telah menjelaskan semua fenomena yang ada dan terjadi di alam semesta, namun untuk memahami apa yang tersirat dalam setiap ayat Allah memerlukan keahlian khusus sehingga dibentuklah cabang ilmu tersendiri untuk menafsirkan ayat Allah. Berdasarkan Q.S Fussilat ayat 53, Allah SWT menggambarkan kebesaran-Nya disegenap penjuru untuk memperlihatkan kebenaran Al-Quran yang diturunkannya seperti yang terlihat pada ayat di bawah ini.

سَتْرِيَهُمْ آيَاتِنَا فِي الْأَفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ (٥٣)

Terjemahnya :

*Kami akan memperlihatkan kepada mereka tanda-tanda (kebesaran) Kami di segenap penjuru dan pada diri mereka sendiri, sehingga jelaslah bagi mereka bahwa Al-Quran itu adalah benar. Tidak cukupkah (bagi kamu) bahwa Tuhanmu menjadi saksi atas segala sesuatu?*⁵⁶

Firman Allah yang berbunyi, “*Kami akan memperlihatkan kepada mereka tanda-tanda (kekuasaan) Kami di segenap ufuk dan pada diri mereka sendiri,*” yakni, Kami akan mengemukakan bukti-bukti dan hujjah-hujjah Kami bahwa Al-

⁵⁵H. M. Subandi, *Mikrobiologi (Perkembangan, Kajian dan Pengamatan dalam Perspektif Islam)* (Bandung: PT Remaja Rosdakarya, 2010), h. 53.

⁵⁶Departemen Agama Republik Indonesia, *op. cit.*, h. 483.

Quran itu benar diturunkan dari sisi Allah kepada Rasul-Nya berupa bukti-bukti eksternal, “Di segenap ufuk,” berupa penaklukan-penaklukan dan kemenangan Islam atas banyak negara dan semua agama, “Dan pada diri mereka sendiri,” ialah susunan tubuh manusia, berupa materi-materi, campuran-campuran dan struktur yang menakjubkan, sebagaimana dijelaskan pada ilmu anatomi. Semua itu menunjukkan hikmah Sang Pencipta.⁵⁷

Ayat di atas menjanjikan bantuan bagi yang hendak berpikir secara objektif. Tidak ada sesuatu yang diciptakan-Nya yang tidak memiliki manfaat, bahkan bakteri yang awalnya dianggap sebagai sumber penyakit kini telah digunakan sebagai obat. Melalui kajian-kajian dan penelitian yang dilakukan, maka tampaklah bahwa Al-Quran adalah benar seperti yang Allah tunjukkan dalam ayat-ayat-Nya. Kebenaran yang mulai diungkapkan satu per satu ini melalui penelitian ilmiah nantinya akan menambah khazanah islamiyah manusia mengenai betapa besar karunia dan ciptaan Allah SWT.

C. Bakteri Selulolitik

Bakteri merupakan mikrobia uniseluler. Pada umumnya bakteri tidak mempunyai klorofil. Ada beberapa yang fotosintetik dan reproduksi aseksualnya secara pembelahan. Bakteri tersebar luas di alam, di dalam tanah, di atmosfer, di dalam endapan-endapan lumpur, di dalam lumpur laut, dalam air, pada sumber air panas, di daerah antartika, dalam tubuh hewan, manusia dan tanaman. Jumlah

⁵⁷Team Ahli Tafsir di Bawah Pengawasan Syaikh Shafiyyurrahman al-Mubarakfuri (Cet. 3 Jilid 8, Oktober 2010), h. 128.

bakteri tergantung keadaan sekitar. Misalnya, jumlah bakteri di dalam tanah tergantung jenis dan tingkat kesuburan tanah.⁵⁸

Nama bakteri berasal dari kata “bakterion” (bahasa Yunani) yang berarti tongkat atau batang. Sekarang nama itu dipakai untuk menyebut sekelompok mikroorganisme yang bersel satu, tidak berklorofil (meskipun ada kecualinya), berbiak dengan pembelahan diri, serta demikian kecilnya sehingga hanya tampak dengan mikroskop.⁵⁹

Bakteri mempunyai ukuran yang sangat kecil sehingga tidak dapat terlihat tanpa menggunakan mikroskop. Dalam keadaan biasa, bakteri tidak pernah dapat dilihat dalam bentuk satu sel bakteri. Bakteri hanya tampak dalam bentuk koloni. Ciri-ciri khusus dari bakteri antara lain berukuran 0,5-50,0 μm , bersel tunggal (uniseluler), dapat diinokulasikan dalam kultur media buatan, berkembang biak dengan membelah diri.⁶⁰ Reproduksi terutama dengan pembelahan biner sederhana yaitu suatu proses aseksual. Beberapa dapat tumbuh pada suhu 0°C, ada yang tumbuh dengan baik pada sumber air panas yang suhunya 90°C atau lebih. Kebanyakan tumbuh pada berbagai suhu di antara kedua ekstrim ini.⁶¹

Bakteri merupakan organisme dengan ciri-ciri sebagai berikut⁶² :

1. prokariot;

⁵⁸Nur Hidayat, Masdiana C. Padaga dan Sri Suhartini, *Mikrobiologi Industri* (Yogyakarta: ANDI, 2006), h. 16.

⁵⁹D. Dwijoseputro, *Dasar-dasar Mikrobiologi* (Jakarta: Djambatan, 2010), h. 22.

⁶⁰H. M. Subandi, *op. cit.*, h. 67.

⁶¹Michael J. Pelczar dan Chan, *Elements of Microbiology*, terj. Ratna Sri Hadioetomo, *et. al.*, *Dasar-dasar Mikrobiologi* (Jakarta: UI-Press, 2010), h. 46.

⁶²H. M. Subandi, *op. cit.*, h. 68.

2. sel tunggal, mikroorganisme mikroskopik (kekecualian ada dua yang ditemukan dengan ukuran yang hampir dapat dilihat dengan mata telanjang);
3. umumnya berukuran lebih kecil daripada sel eukariot;
4. sangat kompleks meskipun ukurannya kecil.

Bakteri memiliki bentuk yang berbeda-beda, kebanyakan bakteri berasal dari tiga bentuk dasar berikut: coccus (bulat), bacillus (batang) dan spiral. Coccus merupakan bakteri sferik (lensa) atau oval yang memiliki beberapa rangkaian yang didasarkan pada belahannya hasil pembelahan sel, basil merupakan bakteri yang berbentuk batang, sedangkan spiral meliputi satu dari tiga bentuk ini: vibrio, spirillum atau spirochete.⁶³

Penggolongan bakteri berdasarkan perbedaan temperatur, yaitu⁶⁴ :

1. Bakteri termofil (politermik), yaitu bakteri yang tumbuh dengan baik sekali pada temperatur setinggi 55°C sampai 65°C, meskipun bakteri ini juga dapat berbiak pada temperatur lebih rendah atau lebih tinggi daripada itu, yaitu dengan batas-batas 40°C sampai 80°C.
2. Bakteri mesofil (mesotermik), yaitu bakteri yang hidup baik di antara 5°C dan 60°C, sedang temperatur optimumnya ialah antara 25°C sampai 40°C.
3. Bakteri psikrofil (oligotermik), yaitu bakteri yang dapat hidup di antara 0°C sampai 30°C, sedang temperatur optimumnya antara 10°C sampai 20°C.

Salah satu jenis bakteri adalah kelompok bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik merupakan suatu komunitas bakteri yang hidup pada bahan yang

⁶³*ibid*, h. 68 – 72.

⁶⁴D. Dwijoseputro, *op. cit.*, h. 93.

mengandung selulosa.⁶⁵ Mikroorganisme selulolitik seperti bakteri dan fungi menghasilkan seperangkat enzim yang menghidrolisis selulosa kristal secara sinergis menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa yang berfungsi sebagai sumber karbon dan unsur hara bagi pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Enzim yang berperan dalam proses hidrolisis tersebut adalah selulase yang dihasilkan mikroorganisme sebagai respon terhadap adanya selulosa pada lingkungan hidupnya dan proses tersebut berlangsung jika terjadi kontak antara sel bakteri dengan permukaan selulosa.⁶⁶

Beberapa bakteri selulolitik, yaitu genus *Acetivivbrio*, *Fibrobacter*, *Clostridium*, *Rominococcu*, *Themoanabacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Staphylococcus*, *Cellvibrio*, *Erwina*, *Pseudomonas*, *Sporocytophaga*, *Streptomyces*, *Thermomonospora*, *Flavogriseus* dan *Codocellum*.⁶⁷

Bakteri dapat tumbuh pada medium yang berisi unsur-unsur hara makro dan mikro. Kebutuhan bakteri pada umumnya adalah sebagai berikut.⁶⁸

1. Sumber energi yang diperlukan untuk reaksi-reaksi sintesis yang membutuhkan energi dalam pertumbuhan dan restorasi, pemeliharaan keseimbangan cairan, gerak, dan sebagainya.
2. Sumber karbon.

⁶⁵Ronny Martien, *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik serta Kemampuannya dalam Memproduksi Enzim Selulase dengan Waktu Inkubasi yang Berbeda dari Hutan Mangrove Tegakan Rhizophora sp di Desa Kemujan, Karimunjawa* (Skripsi Sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro, Semarang, 2000), h. 1.

⁶⁶Fikrinda, *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulase Ekstremofilik dari Ekosistem Air Hitam* (Tesis Magister, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor, 2000), h. 5.

⁶⁷Ronny Martien, *op. cit.*, h. 11.

⁶⁸Koes Irianto, *Mikrobiologi "Menguak Dunia Mikroorganisme"* (Bandung; Yrama Widya, 2006), h. 122.

3. Sumber nitrogen, sebagian besar untuk sintesis protein dan asam-asam nukleat.
4. Sumber garam-garam anorganik, khususnya fosfat dan sulfat sebagai anion; dan potassium, sodium magnesium, kalsium, besi, mangan sebagai kation.
5. Bakteri-bakteri tertentu membutuhkan faktor-faktor tumbuh tambahan, disebut juga *vitamin bakteri*, dalam jumlah sedikit sekali untuk sintesis metabolik esensial.

Tidak semua bakteri membutuhkan zat makanan yang sama. Ada bakteri yang dapat hidup dengan hanya zat-zat anorganik, tetapi ada pula bakteri yang tidak dapat hidup jika tidak ada zat organik. Bahkan, ada pula bakteri yang tidak dapat hidup di luar tubuh tuan-rumah (*hospes*). Kebanyakan bakteri membutuhkan zat-zat anorganik seperti garam-garam yang mengandung natrium, kalium, kalsium, magnesium, besi, klorida, sulfur dan fosfor, sedang beberapa spesies tertentu masih membutuhkan tambahan mineral seperti Mn dan Mo.⁶⁹

D. Enzim Selulase

Enzim merupakan katalisator biologis yang bertanggung jawab untuk mendukung semua reaksi kimia sel dalam mempertahankan homeostasis. Katalisator dapat berupa enzim maupun senyawa bukan enzim yaitu berupa logam. Kebanyakan enzim adalah protein,⁷⁰ dari hasil penelitian para ahli biokimia ternyata bahwa banyak enzim mempunyai gugus bukan protein, jadi termasuk golongan protein majemuk. Enzim semacam ini disebut holoenzim yang terdiri atas protein yang disebut apoenzim dan suatu gugus bukan protein. Gugus

⁶⁹D. Dwidjoseputro, *op. cit.*, h. 69.

⁷⁰Saryono, *Biokimia Enzim* (Cet 1; Yogyakarta: Nuha Medika, 2011), h. 1.

bukan protein ini yang dinamakan kofaktor, ada yang terikat kuat pada protein, ada pula yang tidak begitu kuat ikatannya. Gugus yang terikat kuat pada bagian protein, disebut gugus protetik, sedangkan yang tidak begitu kuat ikatannya, disebut koenzim.⁷¹

Pada kebanyakan enzim, kekuatan yang menghubungkan substrat dengan enzim umumnya menggunakan ikatan nonkovalen seperti:

1. ikatan hidrogen
2. interaksi ionik
3. interaksi hidrofob

Interaksi enzim-substrat merupakan interaksi yang lemah, khususnya ketika atom terlibat lebih dari satu amstrong dari yang lainnya sehingga kesuksesan pengikatan enzim dengan substrat memerlukan kedua molekul untuk berdekatan dengan permukaan yang bersentuhan lebar. Hal ini memerlukan konfigurasi yang saling berkomplemen antara substrat dengan enzim dan hal ini menjelaskan spesifitas kebanyakan enzim.⁷²

Secara sederhana reaksi enzimatik dapat digambarkan sebagai berikut:



⁷¹Anna Poedjiadi dan Titin Supriyanti, *Dasar-dasar Biokimia* (Jakarta: UI-Press, 2009), h. 162.

⁷²Saryono, *op. cit.*, h. 5-6.

dari reaksi tersebut terlihat bahwa terjadi reaksi sementara antara enzim dengan substrat. Ikatan ini sifatnya labil dan hanya terjadi dalam waktu yang singkat. Ikatan ini selanjutnya akan pecah kembali menjadi enzim dan produk.⁷³

Enzim dihasilkan oleh sel-sel hidup dimana kerjanya spesifik dan aktivitasnya optimal pada pH tertentu, dikelompokkan dan dinamai menurut macam reaksi atau zat yang menjadi objeknya. Banyaknya dan tipe reaksi yang dikatalisis oleh suatu enzim ditetapkan dalam enam kekhasan (spesifitas) enzim itu, enzim dikelompokkan dalam enam pembagian utama, yaitu oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase dan ligase.⁷⁴

Enzim selulase merupakan enzim hidrolase yang bekerja mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan $\beta(1,4)$ -glikosida dalam selulosa. Enzim selulase dihasilkan oleh mikroorganisme, hewan moluska, ketam, rayap dan hewan memamah biak yang mengandung mikroorganisme selulolitik.⁷⁵

Enzim selulase adalah enzim ekstrasel multikompleks yang terdiri atas 3 komponen yaitu :

1. Enzim C_1 (1,4- β -D-glukan 4-glukan selobiohidrolase atau eksoglukanase).

Enzim ini bekerja pada daerah selulosa kristalin dan diubah menjadi selulosa amorf dengan susunan yang renggang. Eksoglukanase berperan dalam mengatur proses reduksi atau tanpa reduksi dari ujung rantai selulosa polisakarida, membebaskan glukosa (glukanohidrolase) atau selobiosa

⁷³Ronny Martien, *op. cit.*, h. 7.

⁷⁴Tim Eramedia, *Kamus Pintar Kimia* (Eramedia Publisher, 2008), h. 141.

⁷⁵Ari Widiyanto, *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Rayap (Reticulitermes flavipes)* (Skripsi sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro, Semarang, 1999), h. 1.

(selobiohidrolase) sebagai produk utamanya. Eksoglukanase dapat juga berperan pada selulosa mikrokristalin, menyambung rantai selulosa dari struktur mikrokristalin.⁷⁶

2. Enzim C_x (1,4- β -D-glukan 4-glukanhidrolase atau endoglukanase).

Endoglukanase merupakan komponen selulase yang selalu ditemukan dalam mikroorganisme selulolitik baik fungi maupun bakteri. Enzim ini memiliki afinitas yang tinggi terhadap turunan selulosa tersebut dengan aksi endo dan beraksi secara acak pada serat selulosa yang memiliki kristalinitas rendah. Enzim ini sangat aktif memutuskan ikatan selulosa dapat larut atau selulosa amorf seperti carboxymethyl cellulose (CMC), hidroxy ethyl cellulose (HEC), H_3PO_4 -swollen (walseth) selulosa (selulosa dengan perlakuan awal H_3PO_4), selotetraosa dan selopentosa dan aktivitasnya menurun dengan semakin pendeknya rantai selodekstrin. Enzim ini lebih dikenal dengan nama CMC-ase karena aktivitasnya yang tinggi pada substrat CMC.⁷⁷

3. Enzim β -glukosidase. β -glukosidase merupakan enzim hidrolitik yang beraksi terhadap berbagai senyawa dengan ikatan β -D-glikosidik. Enzim ini tidak menghidrolisis CMC atau selulosa tetapi menghidrolisis selooligosakarida, pNPG dan selobiosa menjadi glukosa yang merupakan sumber karbon yang dapat digunakan dengan mudah untuk pertumbuhan fungi.⁷⁸

Perbandingan ketiga komponen kompleks enzim selulase tergantung pada jenis mikrobanya. Sebagai contoh enzim ekstraselular bakteri *Cellulomonas* CSI-

⁷⁶*ibid.*

⁷⁷Fikrinda, *op. cit.*, h. 7.

⁷⁸*ibid.*, h. 8-9.

17 lebih berperan dalam penguraian selulosa amorf. β -D-1,4-glukosidase umumnya bersifat ekstraselular pada kapang tidak pada bakteri.⁷⁹

Mekanisme pemecahan selulosa oleh selulase secara alamiah dapat ditulis sebagai berikut:

Selulosa kristalin $\xrightarrow{C_1}$ Selulosa amorf $\xrightarrow{C_x}$ Senyawa gula terlarut

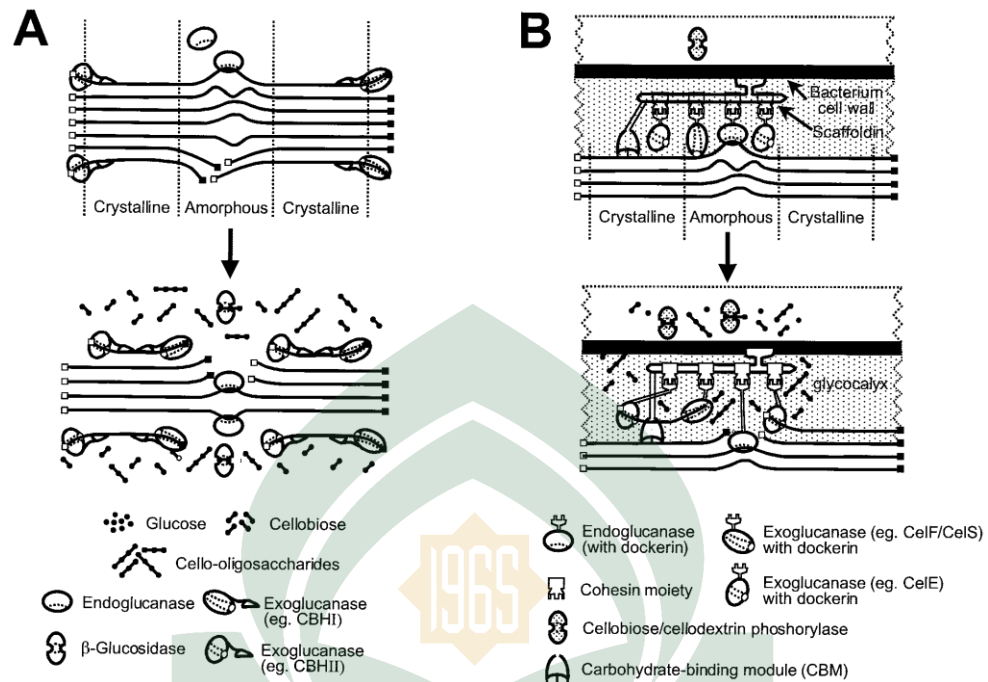
Komponen C_1 dari enzim selulase akan melakukan perubahan pada molekul selulosa kristalin menjadi selulosa amorf, komponen C_1 ini mengaktifkan rantai selulosa untuk dihidrolisis lebih lanjut oleh komponen enzim penghidrolisis dari enzim selulase tersebut. Turunan selulosa yang larut dan selulosa yang terdegradasi sebagian dihidrolisis oleh komponen C_x dari enzim selulase menghasilkan monosakarida glukosa dan disakarida yaitu selobiosa. β -glukosida yang merupakan komponen ketiga dari sistem enzim selulase kompleks menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa.⁸⁰

Di bawah ini merupakan skema representasi hidrolisis selulosa amorf dan mikrokristalin selulosa dari sistem selulase non kompleks (A) dan kompleks (B). Persegi padat mewakili akhir tereduksi dan persegi terbuka mewakili akhir yang tidak tereduksi.⁸¹

⁷⁹Tresnawati Purwadaria, *et. al.*, *Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap*, Balai Penelitian Ternak Departemen Kimia FMIPA IPB, JITV vol. 8 no. 4 (4 November 2003), h. 214.

⁸⁰Ronny Martien, *op. cit.*, h. 8-9.

⁸¹Lee R. Lynd, *et. al.*, *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology*, Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol. 66 No. 3 (September 2002), h. 512.



Gambar 2.4. Proses pemecahan selulosa menggunakan kompleks enzim selulase

Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:

1. Temperatur

Biasanya kecepatan reaksi meningkat seiring peningkatan suhu, tetapi dengan berjalannya reaksi enzimatik, titik maksimal akan dicapai dan laju reaksi akan menurun dengan peningkatan suhu. Pada temperatur tinggi, bagian protein dari enzim mulai rusak (terdenaturasi) sehingga menghambat reaksi. Enzim hanya bekerja efektif pada suhu optimal. Pada suhu rendah enzim menjadi tidak aktif.⁸²

Temperatur optimum produksi selulase setiap mikroorganisme berbeda-beda sekalipun mikroorganisme tersebut tergolong dalam spesies yang sama, seperti temperatur optimum *Bacillus pumilus* dalam memproduksi enzim selulase

⁸²Saryono, *op. cit.*, h. 87.

adalah 37 °C dan temperatur terbaik kedua adalah 40 °C⁸³ sedangkan *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari ladang pertanian memiliki suhu optimum 45 °C⁸⁴ dan pada *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari kotoran sapi adalah 30 °C dimana sebelumnya telah dilakukan penelitian oleh Abdelnasser dan Ahmed pada tahun 2007 bahwa temperatur optimum dari *Bacillus sp* adalah 75 °C.⁸⁵

2. Pengaruh pH

Seperti protein pada umumnya, struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif atau ion bermuatan ganda (*zwitter ion*). Dengan demikian perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. Di samping pengaruh terhadap struktur ion pada enzim, pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim.⁸⁶

Isolat-isolat yang dikarakterisasi menunjukkan keragaman pH optimum. Isolat bakteri selulolitik yang diisolasi dari tanah pertanian umumnya bersifat asam dan serasah yang umumnya bersifat alkali hingga netral. Salah satu contoh bakteri selulolitik yang memiliki pH optimum ekstrim asam ialah *Clostridium acetobutylicum* dengan pH optimum 4,6. Kisaran pH untuk selulase tergolong

⁸³T. Shankar dan L. Isaiarasu, *Cellulase Production by Bacillus pumilus EWBCM1 under Varying Cultural Conditions*, Middle-East Journal of Scientific Research 8 (1) : 40 -45 (2011), h. 41.

⁸⁴Vipul Verma, Alpika Verma dan Akhilesh Kushwaha, *Isolation and Production of Cellulase Enzyme from Bacteria Isolated From Agricultural Fields in District Hardoi, Uttar Pradesh, India*, Pelagia Research Library, Advances in Applied Science Research (2012), h. 172 - 173.

⁸⁵Saraswati Bai, *et. al.*, *Cellulase Production by Bacillus subtilis Isolated from Cow Dung*, Scholars Research Library, Archives of Applied Science Research (2012), h. 273.

⁸⁶Anna Poedjiadi dan Titin Supriyanti, *op. cit.*, h. 162.

luas, *Bacillus* sp. galur N-4 menghasilkan selulase yang aktif pada rentang pH 5 – 10. Avilase yang merupakan salah satu enzim dari sistem enzim selulase memiliki pH optimum 4,5 dan 5 dengan rentang pH 4 – 9. CMC-ase cenderung optimum pada pH asam yaitu rentang 4 – 6,5.⁸⁷

3. Konsentrasi Substrat

Konsentrasi substrat juga ikut mempengaruhi aktivitas enzim dimana pada konsentrasi substrat yang rendah menyebabkan daerah aktif pada enzim tidak semuanya terikat pada substrat. Hasil eksperimen menunjukkan pada konsentrasi enzim yang tetap, maka pertambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, kecepatan reaksi tidak akan mengalami kenaikan walaupun konsentrasi substrat diperbesar.⁸⁸

Selulase komersial sudah mengandung beberapa aktivitas selobiase, namun aktivitasnya rendah. Oleh karena itu, pada proses hidrolisis lignoselulosa menggunakan enzim, perlu ditambahkan selobiase untuk meningkatkan kadar glukosa yang dihasilkan. Hidrolisis hemiselulosa oleh enzim lebih kompleks lagi. Pemecahan ikatan hemiselulosa yang merupakan biopolimer yang heterogen membutuhkan aktivitas beberapa enzim hidrolitik. Enzim-enzim tersebut secara kolektif disebut hemiselulase, dan terdiri atas enzim-enzim endo yang memecah ikatan glikosidik, enzim-enzim ekso yang memindahkan gula residu dari hasil akhir yang tidak tereduksi dan esterase yang menyerang ikatan ester non

⁸⁷Anja Meryandini, *et. al.*, *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya*, Makara Sains Vol. 13 No. 1 (April 2009), h. 36.

⁸⁸Khairil Anwar Syam, *Optimasi Produksi dan Aktivitas Enzim Selulase dari Mikrba Selulolitik Asal Rayap* (Skripsi Sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor, 2008), h. 4.

glikosidik. Enzim hidrolitik hemiselulosa meliputi endo- β -1,4-xilanase, ekso- β -D-xilosidase, α -L-arabinofura-nosidase, endo-1,5- α -L-arabinanase, α -glukuronidase, asetil esterase, yang terdiri atas asetilxilan esterase dan asetil esterase dan *phenolic acid esterase*, yang terdiri atas feruloyl esterase dan p-coumaroyl esterase.⁸⁹

Enzim selulase dapat dihasilkan oleh bakteri, enzim ini dikeluarkan oleh sel bakteri guna mengambil zat makanan yang ada di sekeliling sel; enzim semacam ini disebut *ekso-enzim* atau *enzim luar sel*. Sebaliknya, di dalam sel sendiri terdapat juga banyak enzim yang memegang peranan dalam proses pencernaan dan pembongkaran zat makanan yang telah ada di dalam sel sendiri; enzim ini disebut *endo-enzim* atau *enzim dalam sel*. Enzim yang menolong dalam pengubahan karbohidrat, lemak, protein dan beberapa zat lainnya yang terdapat di dalam medium, sehingga zat-zat tersebut dapat diserap oleh bakteri, masuk dalam golongan ekso-enzim. Sebaliknya, enzim-enzim yang menolong dalam pembongkaran zat makanan seperti pada peristiwa pernapasan dan fermentasi, masuk golongan endo-enzim.⁹⁰

1. Isolasi Enzim Selulase

Bertahannya kehidupan bakteri bergantung pada bahan makanan dan kondisi lingkungan. Kebanyakan bakteri memerlukan bahan-bahan molekul ringan yang larut dalam air yang umumnya diperoleh dari nutrisi kompleks yang telah mengalami degradasi enzimatik. Larutan yang mengandung nutrisi

⁸⁹Joni Karman, *Teknologi dan Proses Pengolahan Biomassa* (Bandung: Alfabeta, 2012), h.108.

⁹⁰D. Dwijoseputro, *op. cit.*, h.72.

demikian disebut medium kultur.⁹¹ Medium yang diharapkan adalah medium yang memungkinkan isolat dapat tumbuh dengan baik dan memberikan penampakan bahan genetik yang maksimum.⁹² Medium pembiakan yang digunakan untuk mengembangbiakkan bakteri di laboratorium dapat dibedakan dalam; *medium pembiakan dasar*, *medium pembiakan penyubur*, *medium pembiakan selektif* dan *cara mendapatkan biakan murni*.⁹³

Medium pembiakan dasar adalah medium pembiakan sederhana yang mengandung zat-zat yang umum diperlukan oleh sebagian besar mikroorganisme dan dipakai juga sebagai komponen dasar untuk membuat medium pembiakan lain.⁹⁴ Umumnya media dasar dibuat dari bullion, yaitu air kaldu atau ekstrak kentang/toge dicampur dengan pepton, NaCl, aquades dan agar. Apabila dalam suatu biakan tumbuh mikroorganisme yang tidak dikehendaki, maka hal ini disebut biakan terkontaminasi. Inokulasi berarti menumbuhkan mikroorganisme pada suatu media. Masa inkubasi adalah periode waktu yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk tumbuh.⁹⁵

Medium pembiakan penyubur dibuat dari medium pembiakan dasar dengan penambahan zat-zat lain untuk mempersubur pertumbuhan bakteri tertentu yang pada medium pembiakan dasar tidak dapat tumbuh dengan baik, sedangkan medium pembiakan selektif digunakan untuk menyeleksi bakteri

⁹¹H.M. Subandi, *op. cit.*, h. 139.

⁹²Nur Hidayat, Masdiana C. Padaga dan Sri Suhartini, *op. cit.*, h. 24.

⁹³Koes Irianto, *op. cit.*, h. 123.

⁹⁴*ibid.*

⁹⁵H. M. Subandi, *op. cit.*, h. 68.

yang diperlukan dari campuran dengan bakteri-bakteri lain yang terdapat dalam bahan pemeriksaan.⁹⁶

Kebanyakan mikroorganisme dapat tumbuh pada media buatan yang pada dasarnya dapat digolongkan dalam tiga golongan, yaitu⁹⁷ :

- a. *Natural media*, berasal dari potongan-potongan buah-buahan, sayuran atau jaringan binatang (daging).
- b. *Culture media*, berasal dari pepton, ekstrak tanaman, agar atau senyawa kimia lainnya.
- c. *Syntetic media*, berasal dari zat kimia murni.

Biakan yang hanya terdiri dari satu spesies/strain bakteri disebut biakan murni, sedangkan biakan yang terdiri lebih dari satu spesies/strain bakteri disebut biakan campuran.⁹⁸

Bakteri biakan murni diisolasi dari tempat hidup bakteri kemudian diinokulasikan pada medium yang cocok sedemikian rupa hingga sel-sel mikroba tumbuh terpisah-pisah pada medium tadi. Bahan yang diinokulasikan pada medium itu disebut inokulum. Dengan menginokulasikan medium agar nutrient (nutrient agar) dengan metode cawan gores atau metode cawan tuang, sel-sel itu akan terpisah sendiri-sendiri. Setelah inkubasi, sel-sel mikroba individu itu memperbanyak diri sedemikian cepatnya sehingga di dalam waktu

⁹⁶Koes Irianto, *op. cit.*, h. 124.

⁹⁷H. M. Subandi, *loc. cit.*

⁹⁸*ibid.*

18 sampai 24 jam terbentuklah massa sel yang dapat dilihat dan dinamakan koloni.⁹⁹

Pertumbuhan pada bakteri didefinisikan sebagai penambahan berat sel. Karena berat sel relatif sama pada setiap siklus sel, maka pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan jumlah sel. Terdapat berbagai metode dalam mengukur pertumbuhan sel bakteri. Perhitungan sel bakteri terdiri atas 2 (dua) cara, yaitu perhitungan langsung dan tidak langsung.¹⁰⁰

Fase dalam pertumbuhan bakteri telah dikenal luas oleh ahli mikrobiologi. Terdapat 4 fase pertumbuhan bakteri ketika ditumbuhkan pada kultur curah (*batch culture*), yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase perbanyakan (*exponential phase*), fase statis (*stationer phase*) dan fase kematian (*death phase*).¹⁰¹

Pertumbuhan bakteri membutuhkan berbagai unsur makanan yang diperlukan mikroorganisme, di antaranya : sumber karbon yang terdiri dari karbon anorganik untuk autotrof dan hara organik seperti glukosa untuk heteroautotrof, nitrogen sebagai unsur penting dalam sel makromolekul, unsur-unsur nonlogam seperti belerang yang diperoleh dari asam amino yang mengandung belerang dan dari senyawa anorganik seperti sulfat, unsur-unsur logam seperti Ca^{2+} , Zn^{2+} , Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} dan Fe^{3+} dan vitamin

⁹⁹Michael J. Pelczar dan Chan, *op. cit.*, h. 85-86.

¹⁰⁰Tjahjadi Purwoko, *Fisiologi Mikroba* (Jakarta: PT Bumi Aksara, 2009), h. 30.

¹⁰¹*ibid*, h. 33.

sebagai sumber koenzim yang diperlukan untuk pembentukan dan mengaktifkan sistem enzim.¹⁰²

Sumber karbon untuk pertumbuhan isolat bakteri selulolitik adalah CMC yang digunakan sebagai sumber selulosa. CMC adalah selulosa murni yang dapat larut atau selulosa amorf yang lebih mudah terhidrolisis dibandingkan jika selulosa yang diambil dari alam yang masih berikatan dengan lignin dan hemiselulosa serta masih memiliki struktur kristalin (tidak larut) yang tinggi.¹⁰³

Carboxy Methyl Cellulose (CMC) merupakan turunan selulosa, kopolimer dua unit β -D glukosa dan β -D-glukopiranos 2-O-(karboksilmetil)-garam monosodium yang terikat melalui ikatan β -1,4-glikosidik. CMC memiliki kelarutan lebih tinggi daripada selulosa, sehingga mudah dihidrolisis. Hidrolisis CMC menjadi gula-gula sederhana dapat dilakukan dengan menggunakan katalis asam, enzim dari mikroba selulolitik.¹⁰⁴

2. Aplikasi Enzim Selulase

Lignoselulosa adalah bahan yang mengandung selulosa, lignin, hemiselulosa dan ekstrakatif sebagai senyawa-senyawa pokok penyusunnya.¹⁰⁵

Biomassa mengacu pada materi yang berasal dari tumbuhan, namun biomassa

¹⁰²H. M. Subandi, *op. cit.*, h. 140 – 141.

¹⁰³Rahayu Puji Astutik, Nengah Dwianita Kuswytsai dan Maya Shovitri, *Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Xilanase Isolat Kapang Tanah Wonorejo Surabaya* (Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya), h. 4.

¹⁰⁴Masfufatun, *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase* (Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya), h. 1.

¹⁰⁵Joni Karman, *op. cit.*, h. 101.

juga dapat bersumber dari hewan dan mikroorganisme.¹⁰⁶ Biomassa dapat diolah menjadi bahan bakar menggunakan enzim. Enzim telah banyak dikembangkan menjadi komoditas yang diproduksi dan diperdagangkan, enzim dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, seperti dalam pengolahan di berbagai industri (terutama industri pangan), diagnosis, analisis, biologi molekuler, transformasi senyawa kimia (terutama yang memiliki aktivitas farmakologis), sebagai bahan aditif dalam deterjen dan juga digunakan sebagai obat.¹⁰⁷

Minyak bumi dapat diproduksi menggunakan glukosa sebagai substrat fermentasi. Sumber glukosa yang paling murah adalah dari pemecahan selulosa. Selulosa yang berlimpah sangat potensial dipakai sebagai bahan baku untuk produksi etanol. Hidrolisis selulosa secara hayati menggunakan enzim murni atau mikroorganisme penghasil enzim selulase.¹⁰⁸ Penggunaan enzim dalam mendegradasi polimer di bidang industri maupun pertanian telah banyak dilakukan untuk efisiensi biaya produksi.¹⁰⁹ Dalam bidang industri, peranan enzim selulase sangat besar dalam menghidrolisis lignoselulosa yang dapat digunakan sebagai substrat dalam biofuel, seperti bioetanol, biobutanol, biodiesel dan biohidrogen. Biofuel ini merupakan biofuel generasi kedua

¹⁰⁶*Ibid*, h. 14.

¹⁰⁷Shirly Kumala dan Nur Annisa Fitri, *Penapisan Kapang Endofit Ranting Kayu Meranti Merah (Shorea balangeran Korth.) sebagai Penghasil Enzim Xilanase* (Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, April 2008 vol 6 no. 1 Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta).

¹⁰⁸Khairil Anwar Syam, *op. cit.*, h. 1.

¹⁰⁹Zulfatus Sa'adah, Noviana Ika S., Abdullah, *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus Niger Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat* (Artikel Ilmiah Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP, Semarang), h. 2.

karena dianggap lignoselulosa merupakan bahan baku yang tidak mudah dihidrolisis.¹¹⁰

Dalam bidang peternakan, selulase sering dimanfaatkan dalam proses silase. McCullough menyebutkan 3 peranan enzim selulase dalam proses silase yaitu (a) menghidrolisis sebagian dinding sel hijauan sehingga menghasilkan gula yang dapat difermentasi oleh bakteri asam laktat, (b) memperbaiki daya cerna bahan organik dari silase, dan (c) meningkatkan konsumsi bahan kering dari ternak yang mengkonsumsi.¹¹¹ Selulase digunakan secara luas dalam industri tekstil, deterjen, pulp dan kertas. Dalam industri kertas, selulase digunakan untuk mendaur ulang kertas bekas. Selulase juga digunakan dalam pengolahan kopi dan kadang-kadang digunakan dalam industri farmasi sebagai zat untuk membantu sistem pencernaan. Saat ini, enzim selulase juga digunakan sebagai pengganti bahan kimia pada proses pembuatan alkohol dari bahan yang mengandung selulosa.¹¹² Enzim selulase dapat digunakan untuk melembutkan sayur-sayuran dengan mencerna sebagian kandungan selulosa sayur tersebut, dapat mengeluarkan kulit dari biji-bijian seperti gandum, menguraikan dinding sel daun rumput laut sehingga agar-agar yang terkandung di dalamnya dapat keluar.

Dalam bidang kesehatan, selulase digunakan sebagai treatment untuk phytobezoars (salah satu bentuk selulosa bezoar di dalam perut manusia).¹¹³

¹¹⁰Desire Barnard, *op. cit.*, h. 3.

¹¹¹Fikrinda, *op. cit.*, h. 18.

¹¹²Zulfatus Sa`adah, Noviana Ika S., Abdullah, *loc. cit.*

¹¹³*Ibid.*

Dalam industri tekstil sendiri, selulase digunakan sebagai pendegradasi zat warna di dalam limbah tekstil. Limbah industri bersifat resisten sehingga dapat membahayakan lingkungan sekitar karena sifatnya yang karsinogenik, enzim selulase dapat mendegradasi zat warna tekstil menggunakan mekanisme pembentukan radikal bebas. Molekul zat warna dalam limbah dapat direduksi secara efektif menjadi komponen yang tidak berbahaya, bukannya malah turut memproduksi bahan kimia yang berbahaya atau zat padat yang dapat menimbulkan permasalahan pembuangan lebih lanjut.¹¹⁴

E. Selulosa

Pada umumnya polisakarida mempunyai molekul besar dan lebih kompleks daripada mono dan oligosakarida. Molekul polisakarida terdiri atas banyak molekul monosakarida. Polisakarida yang terdiri atas satu macam monosakarida saja disebut homopolisakarida, sedangkan yang mengandung senyawa lain disebut heteropolisakarida. Umumnya polisakarida berupa senyawa berwarna putih dan tidak berbentuk kristal, tidak mempunyai rasa manis dan tidak mempunyai sifat mereduksi. Berat molekul polisakarida bervariasi dari beberapa ribu hingga lebih dari satu juta. Polisakarida yang dapat larut dalam air akan membentuk larutan koloid. Salah satu polisakarida yang penting adalah selulosa.¹¹⁵

¹¹⁴[Handy Christian](http://majarimagazine.com/2007/11/penggunaan-jamur-lapuk-putih-dalam-penghilangan-warna-limbah-tekstil/), "Penggunaan Jamur Lapuk Putih dalam Penghilangan Warna Limbah Tekstil," *Majarimagazine.com*, 29 November 2007. <http://majarimagazine.com/2007/11/penggunaan-jamur-lapuk-putih-dalam-penghilangan-warna-limbah-tekstil/> (26 Juli 2013).

¹¹⁵Anna Poedjiadi dan Titin Supriyanti, *op. cit.*, h. 35.

Komponen lignoselulosa yang memiliki bobot molekul 50.000-500.000 ini terdapat dalam dinding sel tanaman dan memberikan kekuatan pada dinding sel tanaman tersebut. Jerami, kapas, kertas saring dan beberapa jenis kayu-kayuan banyak mengandung selulosa.¹¹⁶

Selulosa adalah polisakarida yang dibangun oleh ikatan β -1,4 glikosidik dan sangat berlimpah pada limbah berlignoselulosa. Ikatan β -1,4 glikosidik merupakan ikatan yang stabil yang tidak mudah terputus.¹¹⁷ Selulosa tidak larut dalam air dan mempunyai berat molekul 50.000 atau lebih, selulosa dihasilkan oleh sitoplasma sel tanaman dan yang membentuk dinding sel.¹¹⁸ Degradasi ikatan β -1,4 glikosidik dari selulosa menjadi glukosa ini memerlukan enzim, yaitu endo β -1,4-glukanase yang memecah selulosa menjadi lebih pendek (oligosakarida), ekso β -1,4-glukanase memotong oligosakarida menjadi selobiosa (disakarida) dari ujung non reduksi, dan β -glukosidase memecah selobiosa menjadi glukosa. Selanjutnya glukosa diglikolisis.¹¹⁹

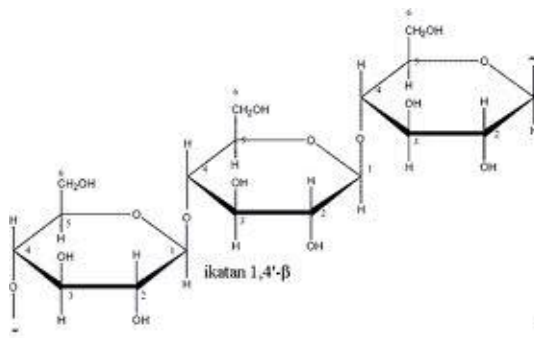
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

¹¹⁶Damin Sumardjo, *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta* (Jakarta, EGC: 2009), h. 230.

¹¹⁷Rahayu Puji Astutik, Nengah Dwianita Kuswytsai dan Maya Shovitri, *op. cit.*, h. 1.

¹¹⁸Tim Eramedia, *op. cit.*, h. 478.

¹¹⁹Tjahjadi Purwoko, *op. cit.*, h. 121.



Gambar 2.5. Ikatan β -1,4 glikosidik pada selulosa

Selulosa berupa zat padat amorf, berwarna putih yang tidak larut dalam air dan pelarut organik umum. Pelarut yang baik untuk selulosa adalah pereaksi Cross (larutan zink klorida dalam asam klorida), pereaksi Schweitzer (larutan amoniak dari kupri hidroksida) dan larutan yang diperoleh dari campuran natrium klorida dengan karbon tetraklorida.¹²⁰

Rantai molekul selulosa tersusun sejajar dan dipengaruhi oleh ikatan hidrogen antara gugus-gugus -OH yang bersebelahan. Ikatan hidrogen dari gugus-gugus hidroksil antar rantai akan menyebabkan terjadinya orientasi paralel memanjang. Susunan selulosa yang teratur disebut dengan kristalin, sedangkan bagian yang kurang teratur merupakan dengan daerah amorf.¹²¹ Analisis sinar-X membuktikan bahwa selulosa berupa rantai-rantai panjang sejajar yang terikat menjadi satu oleh ikatan hidrogen. Hal ini yang menyebabkan selulosa berbentuk serat-serat panjang.¹²²

Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh enzim kompleks yang disebut selulase, yang dikeluarkan oleh organisme yang dapat mendegradasi

¹²⁰Damin Sumardjo, *loc. cit.*

¹²¹Ronny Martien, *op. cit.*, h 5.

¹²²Damin Sumardjo, *loc. cit.*

selulosa. Enzim kompleks ini terdiri atas endo- β -(1 \rightarrow 4)-glukanase (Cx-selulase) dan ekso- β -(1 \rightarrow 4)-glukanase (selobiohidrolase). Cx-selulase memecah ikatan dalam daerah amorf pada senyawa selulosa dan selobiohidrolase memindahkan selobiosa dari hasil akhir yang tidak tereduksi (menghidrolisis ujung rantai selulosa menjadi selobiosa). Kombinasi dari aktivitas enzim-enzim tersebut akan menyebabkan degradasi selulosa, enzim lain, disebut selobiase (β -(1 \rightarrow 4)-glukosidase) selanjutnya dibutuhkan untuk menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa. Enzim ini dikeluarkan oleh fungi dan sejumlah bakteri aerobik yang tumbuh di selulosa.¹²³

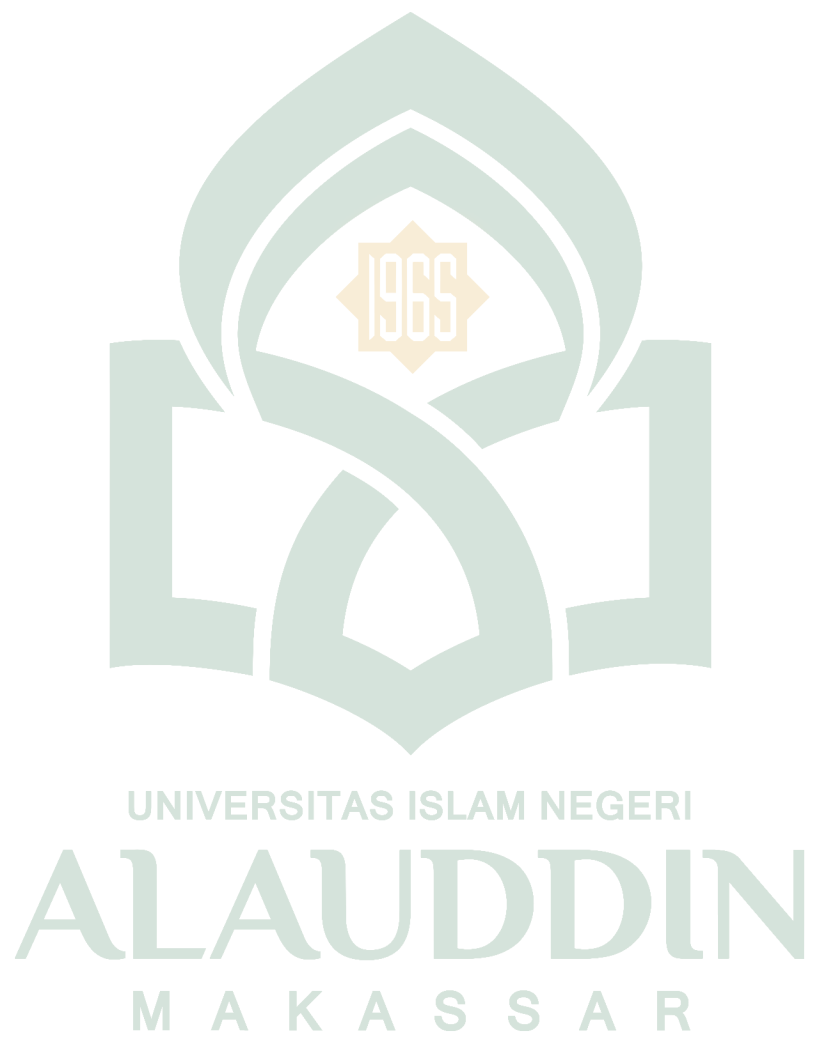
Selulosa tidak dapat dicerna dalam saluran cerna manusia sebab di dalam saluran cerna tidak ada enzim selulase yang mengkatalisis proses hidrolisis selulosa. Namun, selulosa masih memiliki manfaat dalam saluran cerna, antara lain merangsang pengeluaran getah lambung, menyebabkan rasa kenyang dan membantu memadatkan feses. Jadi, selulosa tidak mempunyai nilai gizi sebagai bahan makanan untuk tubuh kita sebab selulosa yang dimakan tidak dapat diubah menjadi glukosa.¹²⁴

Daya tahan selulosa terhadap reaksi kimia tampaknya berhubungan dengan struktur serat selulosa. Kebanyakan bahan kimia yang ditambahkan pada selulosa tidak dapat menembus permukaan serat sehingga tidak dapat masuk ke dalam

¹²³Joni Karman, *op. cit.*, h. 107.

¹²⁴Damin Sumardjo, *loc. cit.*

selulosa. Ini merupakan salah satu penyebab selulosa tidak dapat larut dalam air dan pelarut organik yang umum.¹²⁵



¹²⁵*ibid*

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2013 di Laboratorium Biokimia, Instrumen dan Zoologi Fakultas Sains dan Teknologi serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

B. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Alat

Spektrofotometer UV-Vis *CORY CONC 50*, sentrifuge, autoklaf merk *Astell*, shaker water bath Thermo Scientific *MAXQ 7000*, inkubator Thermo Scientific *HERAEUS*, laminar air flow *ESCO*, lemari asam *ESCO*, oven *Memmert*, hot plate magnetic stirrer, neraca analik, pipet mikro, alat-alat gelas, pembakar spiritus, cawan petri, pipet volume, pipet ukur, bulb, toples kaca, kaki tiga dan kasa asbes, tabung reaksi, gunting dan jarum ose.

2. Bahan

Aquadest, alkohol 70%, aluminium foil, amonium molibdat tetrahidrat $((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O})$, asam dinatrium arsenat heptahidrat, asam sulfat pekat (H_2SO_4) , bakto agar, buffer sitrat 0,5 M pH 4,8, congo red 0,1%, cotton bud steril, galaktosa, glukosa, kalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4) , kalium klorida

(KCl), kalium natrium tartrat tetrahidrat (K-Na-tartrat), kalium nitrat (KNO_3), kalsium klorida (CaCl_2), kapas, karboksi metilselulosa (CMC), laktosa, larva *Cossus cossus*, magnesium klorida heksahidrat ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), magnesium sulfat (MgSO_4), maltosa, natrium klorida (NaCl), natrium hidrogen karbonat (NaHCO_3), natrium karbonat anhidrat (Na_2CO_3), natrium nitrat (NaNO_3), natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4), pepton, spiritus, sukrosa, tembaga (II) sulfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dan yeast ekstrak.

C. Prosedur Kerja

1. Penyiapan sampel

Sampel diambil pada pohon *Matoa sp.* di Desa Lejja Kab. Soppeng dimana sebelum pengambilan sampel *Cossus cossus*, terlebih dahulu dilakukan identifikasi pohon tempat larva tersebut hidup di lapangan. Larva yang diperoleh diawetkan dengan cara direndam dalam alkohol 70%. Sampel yang telah direndam dapat diberi perlakuan selanjutnya untuk diuji spesiesnya.

Sampel *Cossus cossus* yang masih hidup disayat pada bagian perut dengan cara mengeluarkan organ pencernaannya kemudian disuspensikan dalam NaCl 1%. Usus diambil pada bagian belakang larva dengan terlebih dahulu memotong kepala dan bagian ekor tubuh larva, kemudian menarik keluar bagian usus. Setelah mengeluarkan bagian usus, bagian tubuh lainnya dari larva kemudian dikeluarkan.

2. Penyiapan media

Uji pendahuluan dilakukan dengan memasukkan 2 mL suspensi larva ke dalam media cair yang berisi: 1 gram yeast ekstrak, 1 gram pepton dan 1 gram NaCl yang dilarutkan dalam 100 mL aquades. Media cair kemudian di shaker selama 24 jam pada suhu 50°C dengan kecepatan 150 rpm.

Bakteri simbion dalam larva *Cossus cossus* awalnya diisolasi dari media dasar dengan komposisi yaitu 0,1 gram NaNO₃, 0,4 gram K₂HPO₄, 0,05 gram KCl, 0,05 gram MgCl₂.6H₂O, 0,01 gram yeast ekstrak dan 1,5 gram bakto agar. Komposisi dari bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan aquades hingga volume 100 mL. Selanjutnya dihomogenisasi dengan magnetic stirrer, kemudian dipanaskan sampai larut lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, didinginkan dan dituang pada cawan petri steril.

3. Isolasi bakteri simbion dan enzim selulase

Bakteri simbion diisolasi dengan cara membuat dua media yang berisikan substrat CMC dimana media pertama mengandung : 0,04 gram MgSO₄, 0,15 gram KNO₃, 0,1 gram K₂HPO₄, 0,4 gram yeast ekstrak, 0,004 gram CaCl₂, 2 gram CMC dan 2,5 gram bakto agar yang dilarutkan dalam 200 mL aquades sedang media kedua mengandung : 0,1 gram NaNO₃, 0,4 gram K₂HPO₄, 0,05 gram KCl, 0,05 gram MgCl₂.6H₂O, 0,01 gram yeast ekstrak dan 2 gram CMC yang dilarutkan dalam 100 mL aquades.

Isolasi dilakukan dengan menggunakan 3 sampel, sampel pertama berasal dari inokulum yang berasal dari uji pendahuluan, sampel kedua berasal dari hasil goresan dari media dasar dan sampel ketiga dari organ larva *Cossus*

cossus. Sebelum mengisolasi enzim selulase, terlebih dahulu dibuat inokulum yang dibuat dengan cara mengganti CMC dengan glukosa, sukrosa, maltosa, laktosa dan galaktosa dalam 100 mL medium cair sebagai pengganti substrat pada media pertama sehingga diperoleh enam variasi sumber karbon berbeda. Koloni bakteri murni diambil dengan menggunakan cotton bud steril dan diinokulasi ke dalam media cair kemudian dishaker dalam shaking waterbath selama 24 jam pada suhu 50°C dengan kecepatan 180 rpm.

Produksi enzim dimulai dengan membuat media cair dengan jenis sumber karbon berbeda (glukosa, sukrosa, maltosa, laktosa, galaktosa dan CMC), sebanyak 20 mL inokulum dipipet dan dimasukkan ke dalam media produksi. Media produksi kemudian dishaker selama 48 jam pada suhu 50°C dengan kecepatan 180 rpm. Media produksi disentrifuge pada suhu 4°C selama 15 menit dengan kecepatan 5000 rpm.

4. Pengukuran aktivitas enzim selulase

a. Pembuatan larutan standar

Pembuatan larutan standar diawali dengan membuat larutan induk 1000 ppm yang dibuat dengan cara melarutkan 0,1 gram glukosa sampai volume 100 mL. Sebanyak 10 mL larutan induk dipipet untuk membuat larutan baku 100 ppm dalam volume 100 mL. Larutan baku kemudian diencerkan untuk membuat seri larutan standar 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm.

b. Preparasi sampel uji

Larutan standar (10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm) serta blanko dimasukkan ke dalam 7 buah tabung reaksi sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL reagen nelson dan dikocok. Tabung reaksi dipanaskan dalam air mendidih selama 20 menit, setelah itu didinginkan dan ditambahkan 1 mL reagen arsenamolibdat, dikocok dan dibiarkan pada suhu kamar. Menambahkan 7 mL aquades ke dalam tiap tabung reaksi, dikocok hingga homogen, kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang maksimum.

Sebanyak 1 mL CMC 1%, 1 mL buffer sitrat dan 1 mL enzim dimasukkan ke dalam 5 buah tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 1 jam. Tabung reaksi dipanaskan dalam penangas air mendidih selama ± 20 menit, kemudian mendinginkannya dengan es batu. Larutan sampel kemudian ditambahkan 1 mL reagen nelson dan dipanaskan selama 20 menit dalam air mendidih, didinginkan pada suhu kamar. Ditambahkan 1 mL reagen arsenamolibdat, divorteks pada suhu ruang dan ditambahkan 7 mL aquades, dikocok hingga homogen. Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Isolat Bakteri Penghasil Selulase dari Larva *Cossus cossus*

Bakteri diisolasi menggunakan 2 macam media, yaitu media 1 dan media 2. Peremajaan dilakukan sampai 5 kali hingga didapat isolat bakteri yang dapat terus tumbuh dengan baik pada media yang dibuat.

Tabel 4.1 Pertumbuhan isolat bakteri larva *Cossus cossus*

Isolat CMC 1	Peremajaan 1	Peremajaan 2	Peremajaan 3	Peremajaan 4	Peremajaan 5
Usus	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
Pencernaan	Tidak tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
A1	Tidak tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tidak tumbuh	-
Uji Pendahuluan	Tumbuh	Tumbuh	Tidak tumbuh	Tidak tumbuh	-
Usus	Tidak tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
Pencernaan	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
Isolat CMC 2	Peremajaan 1	Peremajaan 2	Peremajaan 3	Peremajaan 4	Peremajaan 5
Usus	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tidak tumbuh	-
Pencernaan	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh
A1	Tumbuh	Tidak tumbuh	-	-	-
Uji Pendahuluan	Tidak tumbuh	-	-	-	-

2. Pengaruh Variasi Sumber Karbon Terhadap Aktivitas Enzim Selulase

Pada media produksi enzim, sumber karbon bakteri selulolitik divariasikan untuk mengetahui pengaruh sumber karbon terhadap aktivitas enzim selulolitik. Konsentrasi glukosa dari enzim selulase ditentukan dengan metode spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 745 nm sehingga didapatkan hasil seperti tabel di bawah ini.

Tabel 4.2 Pengaruh sumber karbon terhadap konsentrasi glukosa

No.	Sumber Karbon	Konsentrasi Glukosa (ppm)
1.	Glukosa	51,35
2.	Sukrosa	40,78
3.	Maltosa	4,69
4.	Laktosa	3,77
5.	Galaktosa	83,93
6.	CMC	3,37

Tabel 4.3 Pengaruh sumber karbon terhadap aktivitas enzim

No.	Sumber Karbon	Aktivitas Enzim ($\mu\text{mol/mL.menit}$)
1.	Glukosa	$4,7546 \times 10^{-3}$
2.	Sukrosa	$3,7759 \times 10^{-3}$
3.	Maltosa	$0,4343 \times 10^{-3}$
4.	Laktosa	$0,3491 \times 10^{-3}$
5.	Galaktosa	$7,7713 \times 10^{-3}$
6.	CMC	$0,3120 \times 10^{-3}$

B. Pembahasan

1. Isolasi Bakteri Simbion Penghasil Selulase

Sampel larva *Cossus cossus* diambil pada permandian air panas Lejja Kab. Soppeng, sampel disimpan dalam toples kaca yang di dalamnya sudah diberi kapas dan serpihan kayu tempat larva tersebut hidup yang bertujuan untuk mempertahankan kondisi sampel selama perjalanan karena toples yang terbuat dari plastik cenderung cepat mengalami pemanasan saat diperjalanan sehingga mempengaruhi kehidupan sampel, penutup toples dilubangi agar udara dapat masuk dan keluar ke dalam toples.

Beberapa larva *Cossus cossus* direndam dalam alkohol 70% untuk identifikasi sampel yang digunakan. Alkohol dapat digunakan untuk mengawetkan hewan yang ukurannya kecil, perendaman dengan alkohol dapat menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk pada sampel baik yang bersifat patogen maupun tidak patogen dengan cara merusak dinding sel bakteri tersebut. Namun, penggunaan alkohol dalam teknik pengawetan dapat menyebabkan perubahan fisik pada sampel yang diawetkan. Perubahan tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: konsentrasi dan tipe senyawa kimia yang digunakan, lama periode penyimpanan, kadar garam dan temperatur penyimpanan. Alkohol 70% dapat digunakan untuk mengawetkan larva secara semi permanen karena penyimpanan larva yang diawetkan dengan

cara ini dalam waktu lama dapat menyebabkan larva berubah warna menjadi hitam sehingga identifikasi larva lebih sulit.¹²⁶

Langkah awal dalam penelitian ini adalah melakukan uji pendahuluan dimana uji pendahuluan dilakukan untuk mengidentifikasi adanya bakteri yang terdapat dalam sampel. Sampel larva *Cossus cossus* disuspensikan dalam NaCl 1% dan dimasukkan ke dalam media cair dimana hasil dari uji pendahuluan ditandai dengan adanya perubahan dari media cair yang awalnya berwarna bening menjadi keruh. Adanya perubahan ini menandakan bahwa terdapat bakteri dalam media cair yang berasal dari sampel sehingga dapat dilakukan isolasi bakteri pada sampel tersebut.

Penumbuhan bakteri dilakukan pada media padat dalam cawan porselin menggunakan NaNO_3 , K_2HPO_4 , KCl, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, yeast ekstrak dan bakto agar, media yang digores ditandai dengan A1, A2, A3 dan A4. Media ini merupakan media dasar untuk mengisolasi bakteri yang ada dalam tubuh larva *Cossus cossus*. Bakteri yang tumbuh pada media dasar terdiri dari beberapa jenis bakteri dimana hasil yang diperoleh adalah positif untuk media A1 yaitu terdapat gumpalan berwarna putih pada daerah goresan media yang menandakan adanya bakteri yang tumbuh pada media tersebut. Tidak tumbuhnya bakteri dengan baik kemungkinan disebabkan karena tidak adanya sumber karbon dalam media dasar yang dibuat untuk penumbuhan bakteri. Medium pembiakan dasar ini seharusnya dijadikan medium pembiakan

¹²⁶April H. Wardhana, S. Muharsini dan Suhardono, *Metode Pengawetan Larva dan Lalat Dewasa Chrysomya bezziana (Diptera: Calliphoridae) untuk Analisis DNA Mitonkondria*, Balai Penelitian Veteriner, Bogor (31 Oktober 2003), h. 267-268.

penyubur, medium pembiakan penyubur dibuat dari medium pembiakan dasar dengan penambahan zat-zat lain untuk mempersubur bakteri tertentu yang pada medium pembiakan dasar tidak dapat tumbuh dengan baik.

Selanjutnya dilakukan isolasi mikroba dengan preparasi sampel yang berbeda dengan tujuan untuk mengetahui daerah tumbuh mikroba dalam tubuh larva *Cossus cossus*. Sampel tersebut terdiri dari usus, pencernaan selain usus, isolat A1 dan hasil dari uji pendahuluan. Isolasi mikroba dilakukan pada dua media yaitu media 1 dan media 2, perbedaan dari media ini terletak pada sumber metal ion yang digunakan yaitu pada media 1 menggunakan $MgSO_4$ dan $CaCl_2$ sedang media 2 menggunakan $NaNO_3$ dan KCl . Media yang dibuat ini merupakan media selektif selulolitik karena di dalam media mengandung sumber karbon CMC, media selektif digunakan untuk menyeleksi bakteri yang diperlukan dari campuran dengan bakteri-bakteri lain yang terdapat dalam media dasar. Hasil dari isolasi ini yaitu terdapat bakteri selulolitik pada bagian usus, pencernaan dan hasil dari uji pendahuluan.

Pelarutan media I dan II yang mengandung CMC dilakukan menggunakan air panas karena pelarutan dengan air dingin akan membuat CMC menggumpal pada media, hal ini disebabkan karena CMC tidak mudah terdispersi dalam air dingin, dengan air panas CMC akan membentuk larutan koloidal (gel). Karboksimetil selulosa (CMC) memiliki bentuk partikel yang berongga yang mudah memuai saat bersentuhan dengan suhu yang tinggi. Rongga yang besar memungkinkan CMC memiliki porositas yang tinggi saat berinteraksi dengan pelarut sehingga membuat CMC akan mudah larut.

Kelarutan CMC tertinggi diperoleh pada perlakuan suhu 70°C, peningkatan suhu akan meningkatkan kelarutan CMC dimana kelarutan suatu zat juga tergantung pada ukuran partikel dan struktur zat itu sendiri.¹²⁷ Suhu tinggi akan menurunkan viskositas CMC sehingga dapat larut dan tidak menggumpal pada media yang dibuat.



Gambar 4.1. Proses pelarutan CMC

Berdasarkan data yang diperoleh (tabel 4.1) terlihat bahwa bakteri selulolitik terdapat pada saluran pencernaan baik itu usus maupun bagian pencernaan lainnya, selain itu bakteri selulolitik juga dapat ditumbuhkan dari hasil uji pendahuluan dengan sampel bakteri ujinya yaitu dari suspensi usus larva. Bakteri tersebut merupakan bakteri selulolitik karena substrat yang digunakan dalam media adalah CMC (karboksimetil selulosa) dimana hanya bakteri selulolitik yang mampu mendegradasi selulosa menjadi glukosa.

¹²⁷Munawwar Khalil, *Kajian Pengolahan dan Toksisitas Khitosan Larut Air dengan Menggunakan Tikus Putih (Rattus norvegicus)* (Disertasi Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Januari 2007), h. 26-27.

Hidrolisis selulosa oleh bakteri menghasilkan CO₂ dan H₂O,¹²⁸ sehingga pada dinding cawan porselin sering ditemukan uap-uap air.

Pada penelitian yang dilakukan, bakteri selulolitik yang diisolasi tumbuh lebih baik dalam media 1 daripada media 2 dimana pada media 1 mengandung sumber metal ion MgSO₄ dan CaCl₂, senyawa ini berperan sebagai unsur hara mikro yang dibutuhkan oleh bakteri selulolitik agar dapat tumbuh pada media. Pada penelitian sebelumnya menggunakan bakteri *Bacillus pumilus* EWBCM1 ditemukan bahwa CaCl₂ merupakan sumber metal ion yang menghasilkan aktivitas selulolitik paling tinggi diantara sumber metal ion lainnya (0,1851±0,006 IU.mL). Secara umum, MgSO₄ sudah sering digunakan sebagai sumber metal ion pada media produksi untuk memperoleh enzim selulase.¹²⁹

Uji kualitatif terdapatnya bakteri selulolitik dalam media padat digunakan *congo red* yang akan menghasilkan daerah bening ketika terdapat aktivitas bakteri selulolitik. Uji *congo red* dilakukan dengan memilih isolat dengan pertumbuhan yang baik kemudian ditetaskan dengan larutan *congo red* 1% dan dicuci menggunakan larutan NaCl 0,1M. *Congo red* akan membuat media dalam cawan petri berwarna merah ketika tidak terdapat aktivitas bakteri selulolitik. Akan terlihat daerah bening pada media yang menyatakan bahwa bakteri telah mengonsumsi media yang mengandung CMC. Zona bening

¹²⁸Lee R. Lynd, et. al., *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology*, Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol. 66 No. 3 (September 2002), h. 520.

¹²⁹T. Shankar dan L. Isaiarasu. *Cellulase Production by Bacillus pumilus EWBCM1 under Varying Cultural Conditions*, Middle-East Journal of Scientific Research 8 (1) : 40 -45 (2011), h. 41 dan 43.

diperjelas dengan pencucian media menggunakan NaCl 0,1 M. *Congo red* bersifat karsinogenik sehingga penambahan *congo red* dalam media akan membunuh bakteri yang hidup pada media tersebut sehingga hanya terlihat zona bening yang menandakan bahwa selulosa pada media tersebut telah dikonsumsi oleh bakteri selulolitik. Hasil yang diperoleh dari uji ini yaitu terdapat zona bening pada media uji, hal ini menandakan adanya aktivitas selulolitik.

Besarnya zona bening yang dihasilkan oleh bakteri selulolitik berbeda-beda, hal ini berhubungan dengan kemampuan masing-masing isolat bakteri dalam menghasilkan enzim selulase. Kemampuan mencerna serat bagi isolat bakteri juga bisa dilihat dari terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Bagi bakteri yang memiliki potensi mencerna serat dengan kuat akan menunjukkan zona bening yang tinggi di sekitar koloni, hal ini akibat dari perubahan struktur serat yang semakin hilang pada media berubah menjadi zat non serat. Kemampuan di dalam menghasilkan enzim untuk mencerna serat menyebabkan perbedaan zona bening yang dihasilkan dari tiap-tiap isolat bakteri.¹³⁰

Visualisasi bentuk zona bening disebabkan oleh adanya hidrolisis CMC yang terdapat di dalam medium pertumbuhan bakteri. Media CMC yang dikonsumsi oleh bakteri akan terhidrolisis jika digenangi oleh pewarnaan *congo red* sehingga tidak akan terwarnai. Hal ini disebabkan karena antara

¹³⁰Mushoffa, *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Feses Kambing* (Skripsi Sarjana, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, 2012), h. 48.

congo red dan selulosa memiliki ikatan kovalen sehingga medium pertumbuhan bakteri yang tidak mengandung selulosa tidak akan berwarna oleh *congo red*.¹³¹

2. Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Aktivitas Enzim Selulase

Sebelum melakukan isolasi, bakteri terlebih dahulu ditumbuhkan dalam inokulum dengan komposisi inokulum sama dengan media I. Inokulum merupakan media cair yang berfungsi untuk mengadaptasikan sel terhadap media fermentasi sehingga diharapkan fase lag sebagai awal fermentasi terlewati. Media inokulum yang mengandung sumber karbon CMC kemudian divariasikan dengan mengganti CMC menggunakan glukosa, sukrosa, maltosa, laktosa dan galaktosa sebagai variasi sumber karbon. Media yang mengandung sumber karbon berbeda selanjutnya di-shaker dalam shaking waterbath selama 24 jam pada suhu 50°C dengan kecepatan 180 rpm. Inkubasi dilakukan selama 24 jam karena pada selang waktu tersebut diasumsikan bahwa bakteri telah mengalami fase logaritmik atau eksponensial (fase pertumbuhan) yang ditandai dengan meningkatnya jumlah sel sehingga bakteri siap dipanen, suhu yang digunakan merupakan suhu optimum pertumbuhan bakteri selulolitik. Inokulum akan menjadi keruh ketika terdapat bakteri di dalam media cair tersebut karena jumlah sel bakteri menjadi sangat banyak, pada awal fase-fase ini kita dapat memanen enzim.

Produksi enzim dilakukan dengan memipet sebanyak 20 mL dari media inokulum untuk dimasukkan ke dalam media produksi yang dikocok selama 48

¹³¹*Ibid.*

jam dengan suhu 50°C, kecepatan 180 rpm, komposisi media produksi sama dengan media inokulum dimana variasi sumber karbon juga dilakukan pada media ini. Lama inkubasi, suhu dan kecepatan shaker waterbath pada media produksi disesuaikan dengan kondisi optimal produksi enzim selulase yang dilakukan pada penelitian sebelumnya. Enzim selulase diperoleh dari supernatan dimana media produksi disentrifuse selama 15 menit dengan kecepatan 5000 rpm pada suhu 4°C. Hal ini dilakukan karena enzim termasuk protein yang dapat mengalami denaturasi pada suhu tinggi sehingga enzim dipisahkan pada suhu 4°C dimana pemutaran pada sentrifuse juga dapat menghasilkan panas yang pada akhirnya dapat merusak enzim yang diperoleh, sehingga digunakan suhu dingin agar dapat menyeimbangi panas yang dihasilkan oleh perputaran dalam sentrifuse.¹³² Enzim selulase merupakan enzim ekstraseluler yang berfungsi untuk mengubah nutrisi di sekitar sel dan membuatnya masuk ke dalam sel sebagai energi untuk pertumbuhan sel. Enzim ekstraseluler dapat diperoleh dengan cara disentrifuse, supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim.

Penentuan glukosa dilakukan dengan metode Nelson-Somogyi, reagen yang digunakan merupakan reagen arsenomolibdat dan reagen nelson yang mengandung tembaga (II). Enzim selulase yang diperoleh dari masing-masing variasi sumber karbon sebanyak 1 mL ditambahkan CMC dan buffer sitrat dengan volume yang sama, penambahan CMC berfungsi sebagai substrat yang akan diurai oleh enzim selulase sedangkan buffer sitrat berfungsi untuk

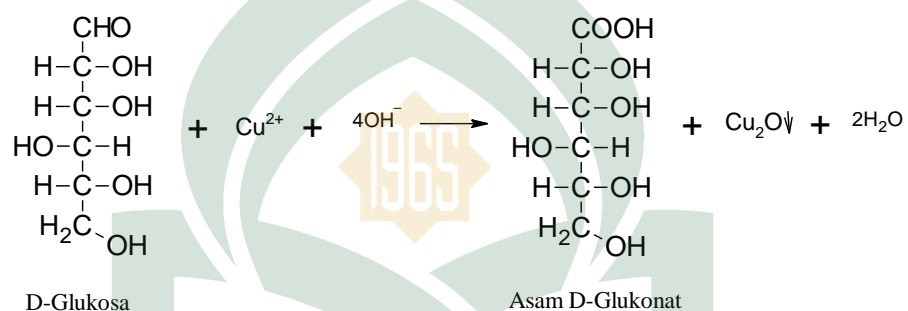
¹³²Saryono, *Biokimia Enzim* (Cet 1; Yogyakarta: Nuha Medika, 2011), h. 1.

mempertahankan pH dari larutan karena pH enzim selulase cenderung optimum pada pH asam yaitu rentang 4 – 6,5.¹³³ Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 1 jam, proses pemanasan ini berfungsi untuk mempercepat proses hidrolisis CMC menjadi glukosa. Pemanasan dilanjutkan dalam penangas air selama \pm 20 menit pada suhu 100°C, selanjutnya dilakukan pendinginan dengan es batu.

Larutan sampel dengan variasi sumber karbon serta larutan standar dan blanko ditambahkan dengan 1 mL reagen nelson, larutan sampel yang mengandung glukosa akan mereduksi komponen pereaksi nelson. Ion tembaga(II) dari pereaksi nelson akan tereduksi oleh glukosa menjadi tembaga(I). Sampel dipanaskan selama 20 menit dimana pemanasan campuran sampel dengan pereaksi nelson dimaksudkan untuk mempercepat reaksi dan mempertegas warna yang menunjukkan adanya gula pereduksi, adanya gula pereduksi teridentifikasi dengan munculnya endapan merah bata yang berasal dari tembaga(I) oksida (Cu_2O). Prinsip pemanasan yaitu, pertambahan suhu akan meningkatkan energi kinetik dari partikel sehingga partikel akan melewati energi aktivasinya dan membuat partikel tersebut mengalami reaksi. Adanya natrium karbonat dalam pereaksi nelson membuat kondisi sampel bersifat basa lemah. Pemanasan larutan dalam tahapan ini tidak menyebabkan peningkatan kadar gula pereduksi karena larutan dalam kondisi basa encer, sehingga gula yang terdapat dalam larutan stabil selama pemanasan. Hasil reaksi pada tahapan ini menghasilkan senyawa yang berwarna merah bata, hijau atau

¹³³Anja Meryandini, *et. al.*, *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya*, Makara Sains Vol. 13 No. 1 (April 2009), h. 36.

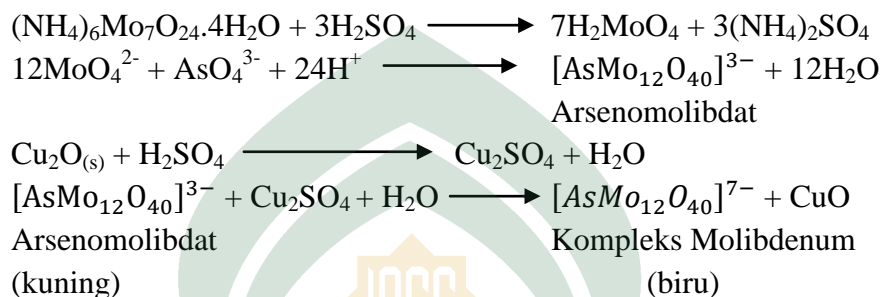
kuning. Warna endapan ini tergantung pada konsentrasi karbohidrat yang diperiksa. Dari penelitian yang dilakukan, sampel cenderung menghasilkan warna hijau kekuningan, hal ini dikarenakan glukosa yang terdapat di dalam larutan berada dalam kadar rendah atau memiliki konsentrasi yang kecil. Reaksi yang terjadi dalam sampel dengan pereaksi nelson dapat dilihat di bawah ini.



Senyawa dari proses pemanasan dengan reagen Nelson tersebut tidak dapat digunakan secara langsung dalam analisis kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri. Hal ini disebabkan senyawa tersebut cenderung berupa endapan sehingga campuran tidak homogen. Pendinginan campuran antara sampel dan pereaksi nelson setelah pemanasan dilakukan dengan merendam tabung reaksi dalam air dingin, selanjutnya ditambahkan pereaksi arsenomolibdat.

Pembuatan pereaksi arsenomolibdat dilakukan dengan penambahan asam sulfat ke dalam amonium molibdat untuk menghasilkan asam molibdat (H_2MoO_4) yang larut pada kondisi asam berlebih. Arsenat dengan amonium molibdat (dari asam molibdat) bereaksi menghasilkan arsenomolibdat yang berwarna kuning sehingga pada tahap kedua, penambahan pereaksi arsenomolibdat mengakibatkan terjadinya oksidasi ion tembaga(I) menjadi

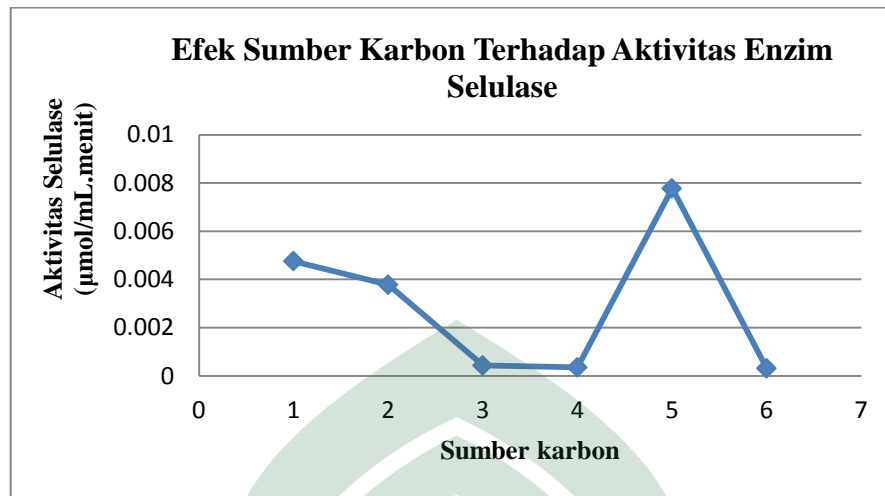
tembaga(II) yang disertai terbentuknya kompleks molibdenum berwarna biru kehijauan,¹³⁴ semakin tinggi kadar gula pereduksi semakin pekat intensitas warna hijau larutan.¹³⁵ Reaksi pembentukan kompleks molibdenum dan oksidasi tembaga dapat dilihat di bawah ini.



Sampel, larutan standar dan blanko selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 745 nm. Kadar glukosa pada setiap sampel dihitung menggunakan nilai absorbansi yang diperoleh pada uji spektrofotometer dengan rumus Lambert-Beer : $A = a.b.C$ (g/liter), persamaan ini menyatakan hubungan antara besarnya serapan (A) terhadap konsentrasi glukosa dimana jika dibuat grafik hubungan A dan C merupakan garis lurus dengan kemiringan a,b. Selanjutnya aktivitas enzim dapat ditentukan melalui kadar glukosa yang diperoleh. Berdasarkan hasil uji dengan spektrofotometer UV-Vis, aktivitas enzim selulase dengan variasi sumber karbon dapat dilihat pada grafik di sebelah.

¹³⁴Athitya Diah Natalia Monica, *Studi Aktivitas Spesifik dari Lactobacillus collinoides yang Dimurnikan dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat* (Skripsi Sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang, 2007), h. 10.

¹³⁵Abd. Rahman Razak, Ni Ketut Sumarni dan Basuki Rahmat, *Optimalisasi Hidrolisis Sukrosa Menggunakan Resin Penukar Kation Tipe Sulfonat*, Jurnal Natural Science, Vol. 1(1) 119-131 (Desember 2012), h. 124.



Gambar 4.2. Grafik aktivitas selulase terhadap sumber karbon

Sumber karbon yang digunakan mempengaruhi aktivitas enzim selulase dimana penambahan sumber karbon pada media produksi enzim memiliki efek positif dan negatif dalam produksi selulase. Produksi selulase maksimum ditemukan dalam galaktosa, kemudian glukosa, sukrosa, maltosa, laktosa dan CMC, seperti yang terlihat pada grafik di atas. Perbedaan ini disebabkan oleh komposisi selulosome yang terbentuk pada bakteri di media inokulum dan produksi, selulosome merupakan sistem selulase kompleks dimana posisi produksi sel selulase berada di daerah hidrolisis. Produksi selulosome biasanya ditemukan dalam lingkungan anaerobik dimana mereka ada dalam konsorsia dengan mikroorganisme lainnya, baik itu selulolitik maupun non selulolitik. Selulosome diproduksi pada dinding sel bakteri selulolitik ketika tumbuh pada bahan selulosa, komposisi selulosome bervariasi pada setiap spesies.¹³⁶

¹³⁶Lee R. Lynd, *et. al., op. cit.*, h. 512 & 514.

Komposisi selulosome dipengaruhi oleh sumber karbon yang digunakan sehingga variasi sumber karbon menghasilkan aktivitas enzim yang berbeda.¹³⁷

Sebelumnya telah dilakukan penelitian terhadap selulosome *C. cellulovorans* yang diproduksi dari selulosa, tetapi tidak pada karbohidrat larut seperti glukosa, fruktosa, selobiosa atau bahkan CMC. Pertumbuhan *C. cellulovorans* pada selobiosa dan CMC tidak menunjukkan aktivitas selulase tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa selulase dapat dihasilkan pada karbohidrat larut tertentu sesuai dengan jenis bakteri selulolitik yang diisolasi.¹³⁸

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, dapat diketahui bahwa variasi sumber karbon dapat mempengaruhi aktivitas enzim selulase yang diproduksi dimana pada penelitian ini, galaktosa merupakan sumber karbon yang menunjukkan aktivitas selulase maksimum terhadap enzim yang dihasilkan oleh sampel larva *Cossus cossus* yang diperoleh dari desa Lejja kab. Soppeng karena memiliki aktivitas enzim tertinggi diantara sumber karbon lainnya.

Penelitian sebelumnya mengenai pengaruh sumber karbon terhadap aktivitas enzim selulase pernah dilakukan pada bakteri *Bacillus pumilus* EWBCM1 dengan aktivitas enzim maksimum ditemukan dalam galaktosa ($0,5851 \pm 0,006$ IU/mL) dan aktivitas enzim minimum pada selulosa ($0,0419 \pm 0,004$ IU/mL).¹³⁹ Dalam penelitian Saraswati (2012) dengan bakteri *Bacillus subtilis*, laktosa ditemukan sebagai sumber karbon terbaik dalam

¹³⁷*Ibid*, h. 517.

¹³⁸*ibid*.

¹³⁹Shankar dan L. Isaiarasu, *loc. cit*.

memproduksi selulase. Pada penelitian yang sama oleh Teodoro, maltosa dilaporkan sebagai sumber karbon terbaik bagi *Bacillus sp.*¹⁴⁰



¹⁴⁰Saraswati Bai, *et. al.*, *Cellulase Production by Bacillus subtilis Isolated from Cow Dung*, Scholars Research Library, Archives of Applied Science Research (2012), h. 275.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

D. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa :

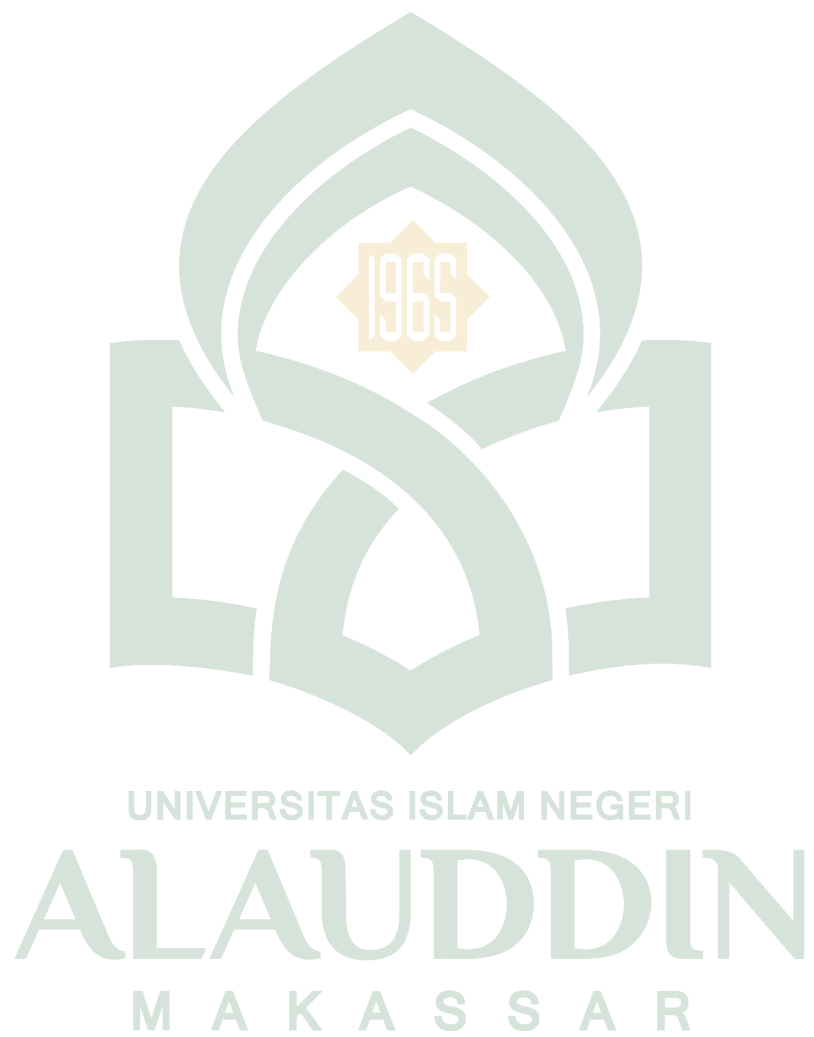
1. Terdapat isolat bakteri penghasil selulase pada larva *Cossus cossus* berdasarkan peremajaan menggunakan substrat CMC dan uji kualitatif dengan congo red yang menghasilkan zona bening.
2. Aktivitas enzim selulase dipengaruhi oleh sumber karbon dimana galaktosa menghasilkan aktivitas enzim tertinggi ($7,7713 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$), kemudian glukosa ($4,7546 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$), sukrosa ($3,7759 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$), maltosa ($0,4343 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$), laktosa ($0,3491 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$) dan CMC ($0,3120 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$).

B. Saran

Saran yang dapat disampaikan pada penelitian ini, yaitu sebagai berikut :

1. Sebaiknya dilakukan uji aktivitas mengenai variasi sumber media lainnya, seperti: sumber nitrogen organik, sumber nitrogen anorganik, efek metal ion atau surfaktan pada aktivitas selulase dari bakteri simbiosis yang terdapat dalam larva *Cossus cossus*.

2. Perlunya identifikasi jenis mikroba baik dari habitat pada lokasi pengambilan sampel maupun yang bersimbiosis dengan larva *Cossus cossus*.



DAFTAR PUSTAKA

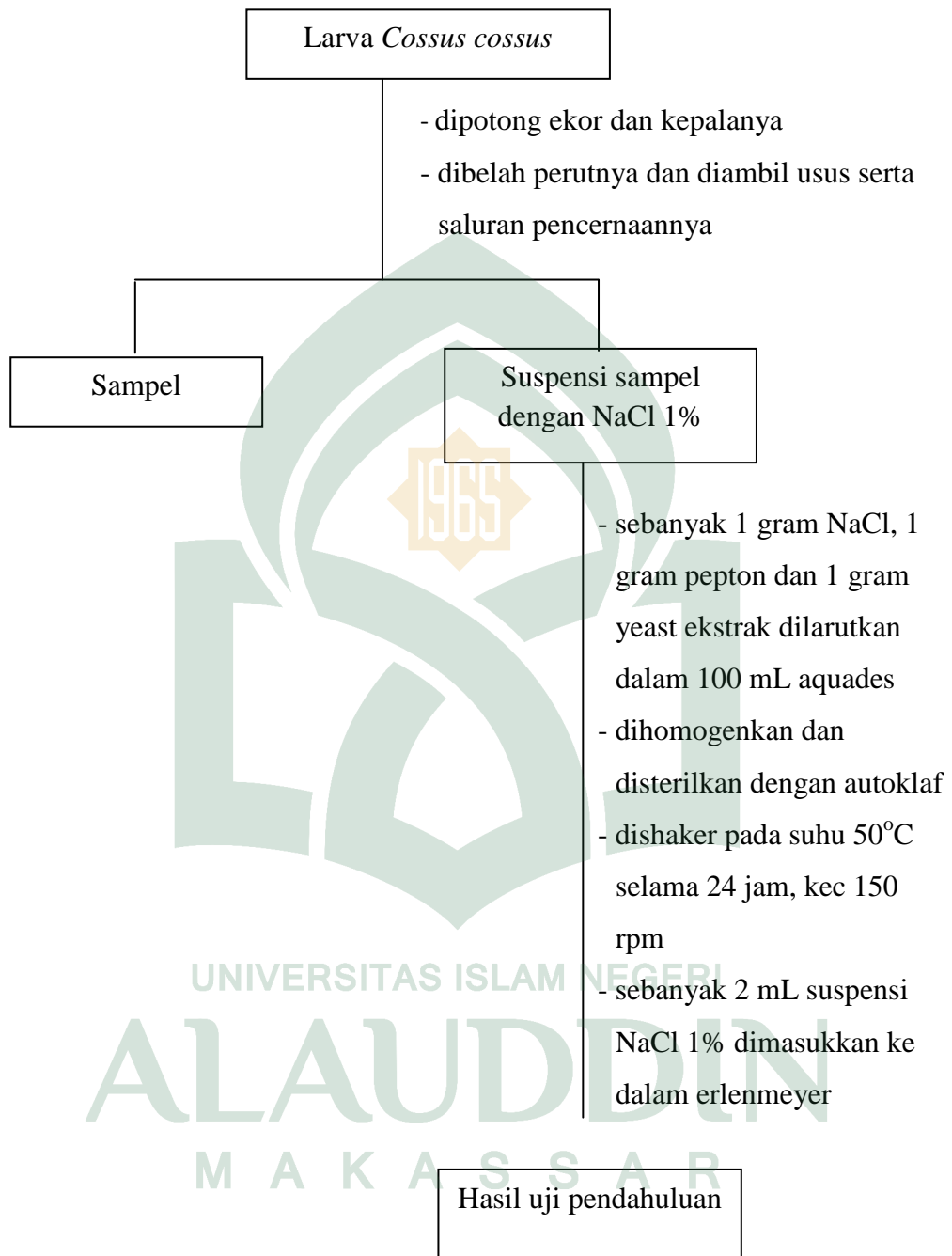
- Abdushshamad, M.K.. *Mukjizat Ilmiah dalam Al-Quran*. Jakarta: Akbar Media Eka Sarana, 2003.
- Ahmed, Subtain, *et. al.*. *Production and Purification of Cellulose-Degrading Enzymes From A Filamentous Fungus Trichoderma Harzianum*. Molecular Biochemistry Lab., Department of Chemistry and Biochemistry, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan, 2009.
- Astutik, Rahayu Puji, Nengah Dwianita dan Maya Shovitri. *Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Xilanase Isolat Kapang Tanah Wonorejo Surabaya*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Bai, Saraswati, *et. al.*. *Cellulase Production by Bacillus subtilis Isolated from Cow Dung*. Scholars Research Library, Archives of Applied Science Research, 2012.
- Barnard, Desire, *et. al.*. *Extremophiles in biofuel synthesis*. Environmental Technology, Vol. 31 No. 8-9, 16 Februari 2010.
- Biorata, Agung Marssada. *Optimasi Produksi Selulase dari Bacillus sp. BPPTCC RK 2 Menggunakan Metode Respon Permukaan dengan Variasi Rasio C/N dan Waktu Fermentasi*. Skripsi Program Studi Tehnologi Bioproses, Depok, 2012.
- Christian, Handy. "Penggunaan Jamur Lapuk Putih dalam Penghilangan Warna Limbah Tekstil," *Majarimagazine.com*, 29 November 2007. <http://majarimagazine.com/2007/11/penggunaan-jamur-lapuk-putih-dalam-penghilangan-warna-limbah-tekstil/> (26 Juli 2013).
- Dashtban, Mehdi, Robert Buchkowski dan Wensheng Qin. *Effect of Different Carbon Sources on Cellulase Production by Hypocrea jecorina (Trichoderma reesei) strains*. Biorefining Research Initiative, Lakehead University, Canada, 30 September 2011.
- Delalibera, Italo, Jr, Jo Handelsman dan Kenneth F. Raffa. *Contrasts in Cellulolytic Activities of Gut Microorganisms Between the Wood Borer, Saperda vestita (Coleoptera: Cerambycidae), and the Bark Beetles, Ips pini and Dendroctonus frontalis (Coleoptera: Curculionidae)*. Environmental Entomology, Vol. 34, No. 3, 2005.
- Departemen Agama Republik Indonesia. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Jakarta: DEPAG, 2002.
- Dwijoseputro, D.. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan, 2010.
- Fikrinda. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulase Ekstremofilik dari Ekosistem Air Hitam*. Tesis Magister, Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor, 2000.

- Fraval, Alain. *Goat moth, Willow borer*.
www7.infra.fr/hyppz/RAVAGEUR/6coscos.htm.
- Herbison, Don-Evans dan Stella Crossley. *Cossidae of Australia (Wijuti, Witchety or Witchetty Grubs, Goat Moths, Carpenter Moths, Wood Moths, Borers)*.
Lepidoptera.butterflyhouse.com.au/coss/cossidae.html
- Hidayat, Nur, Masdiana C. Padaga dan Sri Suhartini. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: ANDI, 2006.
- Irfan, Muhammad, et. al.. *Isolation and Screening of Cellulolytic Bacteria from Soil and Optimization of Cellulase Production and Activity*. Turkish Journal of Biochemistry, 30 September 2012.
- Irianto, Koes. *Mikrobiologi "Menguak Dunia Mikroorganisme"*. Bandung: Yrama Widya, 2006.
- Karman, Joni. *Teknologi dan Proses Pengolahan Biomassa*. Bandung: Alfabeta, 2012.
- Kemp, Johan. *Isolation of Cellulolytic Enzymes Using A Metagenomic Approach*. Disertasi Doktor, Department of Biotechnology and Food Technology Faculty Of Science Tshwane University of Technology, 2010.
- Khalil, Munawwar. *Kajian Pengolahan dan Toksisitas Khitosan Larut Air dengan Menggunakan Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Disertasi Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Januari 2007.
- Kimber, Ian. *Goat Moth Cossus cossus*. ukmoths.org.uk/show.php?id=977
- Kumala, Shirly dan Nur Annisa Fitri. *Penapisan Kapang Endofit Ranting Kayu Meranti Merah (Shorea balangeran Korth.) sebagai Penghasil Enzim Xilanase*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, Vol. 6 No. 1. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta, April 2008.
- Lynd, Lee R., et. al.. *Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology*. Microbiology and Molecular Biology Reviews, Vol. 66 No. 3, September 2002.
- Martien, Ronny. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik serta Kemampuannya dalam Memproduksi Enzim Selulase dengan Waktu Inkubasi yang Berbeda dari Hutan Mangrove Tegakan Rhizophora sp di Desa Kemujan, Karimunjawa*. Skripsi sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro, Semarang, 2000.
- Masfufatun. *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase*. Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya.
- Meryandini, Anja, et. al.. *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya*, Makara Sains Vol. 13 No. 1, April 2009.
- Monica, Athitya Diah Natalia. *Studi Aktivitas Spesifik dari Lactobacillus collinoides yang Dimurnikan dengan Pengendapan Bertingkat Amonium Sulfat*. Skripsi Sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang, 2007.

- Mushoffa. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Feses Kambing*. Skripsi Sarjana, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, 2012.
- “Ngengat kambing,” Wikipedia the Free Encyclopedia. http://en.wikipedia.org/wiki/Cossus_cossus (26 Januari 2013).
- Pelczar, Michael J. dan Chan. *Elements of Microbiology*. Terj. Ratna Siri Hadioetomo, et. al.. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press, 2010.
- Poedjiadi, Anna dan Titin Supriyanti. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press, 2009.
- Purwadaria, Tresnawati, et. al.. *Perbandingan Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri dan Kapang Hasil Isolasi dari Rayap*. Balai Penelitian Ternak Departemen Kimia FMIPA IPB, Vol. 8 No. 4, 4 November 2003.
- Purwoko, Tjahjadi. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: PT Bumi Aksara, 2009.
- Razak, Abd. Rahman, Ni Ketut Sumarni dan Basuki Rahmat. *Optimalisasi Hidrolisis Sukrosa Menggunakan Resin Penukar Kation Tipe Sulfonat*. Jurnal Natural Science, Vol. 1(1) 119-131, Desember 2012.
- Sa'adah, Zulfatus, Noviana Ika S., Abdullah. *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus Niger Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat*. Artikel Ilmiah Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik UNDIP, Semarang.
- Saryono. *Biokimia Enzim*. Cet 1; Yogyakarta: Nuha Medika, 2011.
- Shankar, T. dan L. Isaiarasu. *Cellulase Production by Bacillus pumilus EWBCM1 under Varying Cultural Conditions*. Middle-East Journal of Scientific Research 8 (1) : 40 -45, 2011.
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran)* Vol. 7. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- _____. *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran)* Vol. 8. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- _____. *Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran)* Vol. 11. Jakarta: Lentera Hati, 2002.
- Southdene Sdn. *The Moths of Borneo part 1*, Vol. 40 No. 1 dan 2. Malaysia: Malayan Nature Journal, 1986.
- Subandi, H. M.. *Mikrobiologi (Perkembangan, Kajian dan Pengamatan dalam Perspektif Islam)*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya, 2010.
- Sumardjo, Damin, *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC, 2009.
- Syam, Khairil Anwar. *Optimasi Produksi dan Aktivitas Enzim Selulase dari Mikroba Selulolitik Asal Rayap*. Skripsi Sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor, 2008.

- Team Ahli Tafsir di Bawah Pengawasan Syaikh Shafiyyurrahman al-Mubarakfuri. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir*. Cet. 3 Jilid 5. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, Agustus 2010.
- _____. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir*. Cet. 3 Jilid 6. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, Agustus 2010.
- _____. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir*. Cet. 3 Jilid 7. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, Agustus 2010.
- _____. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir*. Cet. 3 Jilid 8. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, Oktober 2010.
- _____. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir*. Cet. 4 Jilid 9. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, Januari 2011.
- _____. *Shahih Tafsir Ibnu Katsir*. Cet. 4 Jilid 5. Jakarta: Pustaka Ibnu Katsir, Februari 2011.
- Team of BAMONA. *Cossidae*. www.butterfliesandmoths.org/taxonomy/Cossidae
- Tim Eramedia. *Kamus Pintar Kimia*. Eramedia Publisher, 2008.
- Upadhyaya, Subodh K., et. al.. *Isolation and Characterization of Cellulolytic Bacteria from Gut of Termite*. Rentech Symposium Compendium, Vol. 1, Maret 2012.
- Vasanthakumar, Archana, et. al.. *Characterization of Gut-Associated Bacteria in Larvae and Adults of the Southern Pine Beetle, Dendroctonus frontalis Zimmermann*. Entomological Society of America, Vol. 35, No. 6. Desember 2006.
- Verma, Vipul, Alpika Verma dan Akhilesh Kushwaha. *Isolation and Production of Cellulase Enzyme from Bacteria Isolated From Agricultural Fields in District Hardoi, Uttar Pradesh, India*. Pelagia Research Library, Advances in Applied Science Research, 2012.
- Wambrauw, Hengky Lukas. *Karakterisasi Morfologi dan Isozim Matoa (Pometia pinnata forst.)*. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 2011.
- Wardhana, April H., S. Muharsini dan Suhardono. *Metode Pengawetan Larva dan Lalat Dewasa Chrysomya bezziana (Diptera: Calliphoridae) untuk Analisis DNA Mitonkondria*. Balai Penelitian Veteriner, Bogor, 31 Oktober 2003.
- Wardhana, Wisnu Arya. *Al-Quran dan Teori Einstein "Melacak Teori Einstein dalam Al-Quran"*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2009.
- Widiyantoro, Ari. *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase dari Rayap (Reticulitermes flavipes)*. Skripsi Sarjana, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro, Semarang, 1999.
- Willis, Jonathan D., Cris Oppert and Juan L. Jurat-Fuentes. *Methods for Discovery and Characterization of Cellulolytic Enzymes from Insects*. Department of Entomology and Plant Pathology, Journal compilation, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences. 2010.

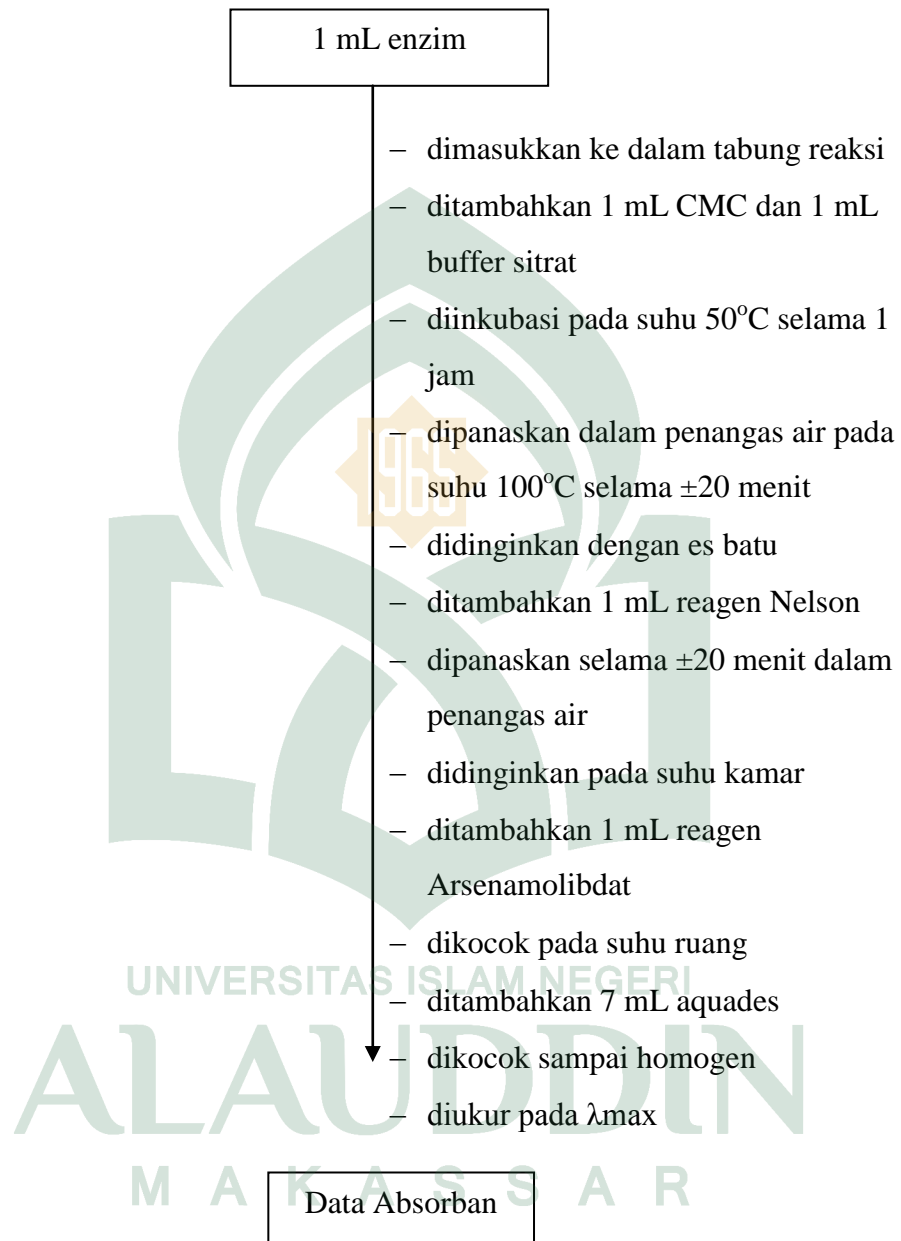
Lampiran 1. Bagan Kerja Preparasi Sampel Larva *Cossus cossus*



Lampiran 2. Bagan Kerja Uji Aktivitas Enzim



Lampiran 3. Prosedur Pengujian Absorbansi Sampel



Lampiran 4. Prosedur Pengujian Absorbansi Standar dan Blanko

1 mL standar glukosa dan
blanko

- dimasukkan masing-masing ke dalam 8 buah tabung reaksi (0, 5, 10, 20, 40, 60, 80 dan 100) ppm
- ditambahkan masing-masing 1 mL reagen Nelson
- dipanaskan selama ± 20 menit dalam penangas air
- didinginkan pada suhu kamar
- ditambahkan 1 mL reagen Arsenamolibdat
- dikocok pada suhu ruang
- ditambahkan 7 mL aquades
- dikocok sampai homogen
- Diukur pada λ_{\max}

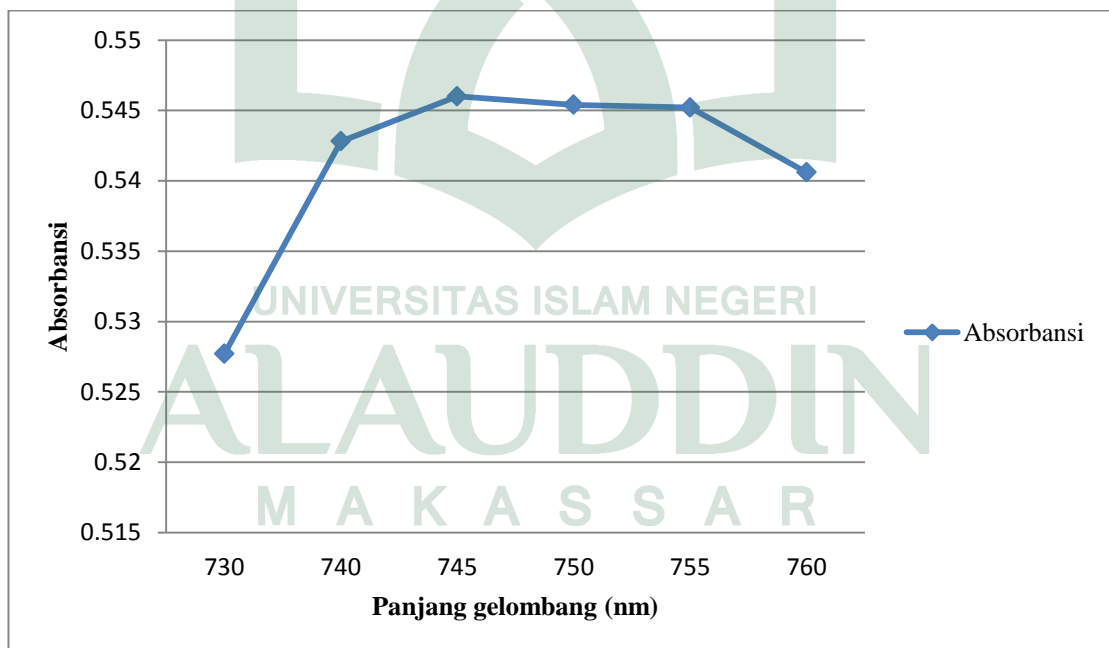
Hasil

Lampiran 5. Penentuan Serapan Maksimum (λ maksimum)

a. Serapan maksimum (λ maksimum) pada konsentrasi larutan standar 60 ppm

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
730	0,5277
740	0,5428
745	0,5460
750	0,5454
755	0,5452
760	0,5406

b. Grafik λ maksimum

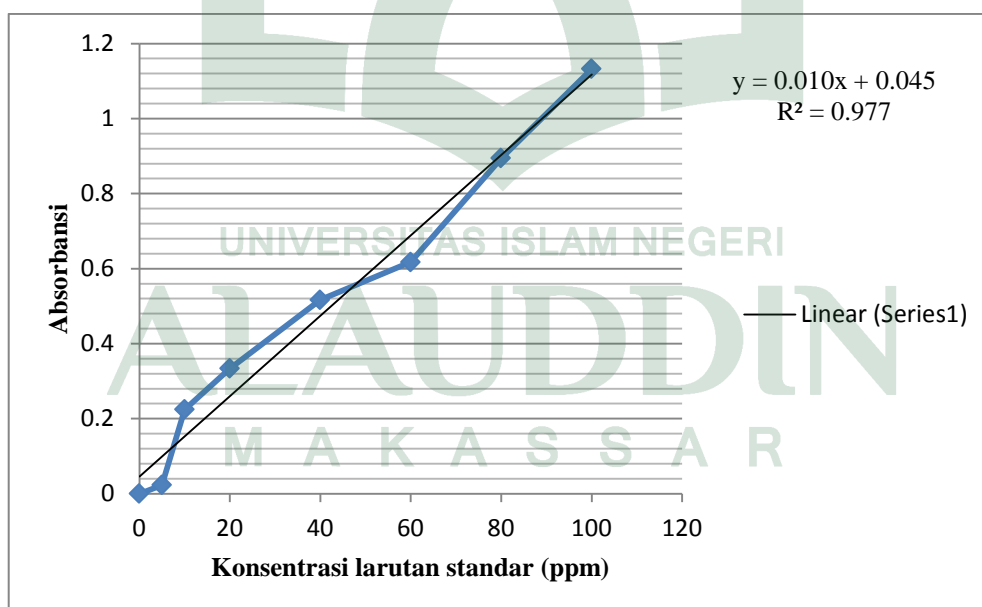


Lampiran 6. Kurva Standar Pengukuran Kadar Glukosa dengan Metode Nelson-Somogy Pada Panjang Gelombang Maksimal 745 nm

a. Data penentuan kadar glukosa

Konsentrasi Larutan Standar (ppm)	Absorbansi
0	0,0000
5	0,0230
10	0,2246
20	0,3338
40	0,5166
60	0,6173
80	0,8941
100	1,1323

b. Kurva kalibrasi larutan standar glukosa



Lampiran 7. Pengukuran Kadar Glukosa pada Setiap Sumber Karbon Berbeda

a. Data konsentrasi glukosa dalam sampel

No.	Larutan	Absorbansi
1.	Glukosa	0,5585
2.	Sukrosa	0,4528
3.	Maltosa	0,0919
4.	Laktosa	0,0827
5.	Galaktosa	0,8843
6.	CMC	0,0787

b. Konsentrasi glukosa dalam sampel

1) Konsentrasi glukosa pada sumber karbon glukosa

$$y = 0,010x + 0,045$$

$$0,5585 = 0,010x + 0,045$$

$$0,010x = 0,5585 - 0,045$$

$$x = 51,35 \text{ ppm}$$

2) Konsentrasi glukosa pada sumber karbon sukrosa

$$y = 0,010x + 0,045$$

$$0,4528 = 0,010x + 0,045$$

$$0,010x = 0,4528 - 0,045$$

$$x = 40,78 \text{ ppm}$$

3) Konsentrasi glukosa pada sumber karbon maltosa

$$y = 0,010x + 0,045$$

$$0,0919 = 0,011x + 0,045$$

$$0,010x = 0,0919 - 0,045$$

$$x = 4,69 \text{ ppm}$$

4) Konsentrasi glukosa pada sumber karbon laktosa

$$y = 0,010x + 0,045$$

$$0,0827 = 0,010x + 0,045$$

$$0,010x = 0,0827 - 0,045$$

$$x = 3,77 \text{ ppm}$$

4) Konsentrasi glukosa pada sumber karbon galaktosa

$$y = 0,010x + 0,045$$

$$0,8843 = 0,011x + 0,045$$

$$0,010x = 0,8843 - 0,045$$

$$x = 83,93 \text{ ppm}$$

5) Konsentrasi glukosa pada sumber karbon CMC

$$y = 0,010x + 0,045$$

$$0,0787 = 0,010x + 0,045$$

$$0,010x = 0,0787 - 0,045$$

$$x = 3,37 \text{ ppm}$$

Lampiran 8. Penentuan Aktivitas Enzim Pada Sumber Karbon Berbeda

No.	Sumber Karbon	Absorbansi	Konsentrasi Glukosa (ppm)	Aktivitas Enzim
1	Glukosa	0,5585	51,35	$4,7546 \times 10^{-3}$
2	Sukrosa	0,4528	40,78	$3,7759 \times 10^{-3}$
3	Maltosa	0,0919	4,69	$0,4343 \times 10^{-3}$
4	Laktosa	0,0827	3,77	$0,3491 \times 10^{-3}$
5	Galaktosa	0,8843	83,93	$7,7713 \times 10^{-3}$
6	CMC	0,0787	3,37	$0,3120 \times 10^{-3}$

Aktivitas enzim menunjukkan kecepatan transformasi substrat yang dapat dikatalisis oleh enzim. Unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai satu mikromol produk yang dihasilkan oleh hidrolisis CMC pada kondisi tertentu (pH dan suhu) per menit.

$$\text{Aktivitas Enzim (U/mL)} = \frac{[\text{Glukosa}]}{\text{Mr glukosa}} \times \frac{\text{Fp}}{\text{Venzim}} \times \frac{\text{Vsubstrat}}{\text{t (menit)}}$$

Glukosa

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} &= \\ \frac{51,35 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mL}}{60 \text{ menit}} \times 1000 \frac{\mu\text{mol}}{\text{mmol}} &= \\ = \frac{51,35 \mu\text{mol}}{10800 \text{ mL.menit}} &= 4,7546 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit} \end{aligned}$$

Sukrosa

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} &= \\ \frac{40,78 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mL}}{60 \text{ menit}} \times 1000 \frac{\mu\text{mol}}{\text{mmol}} &= \end{aligned}$$

$$= \frac{40,78 \mu\text{mol}}{10800 \text{ mL.menit}} = 3,7759 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit}$$

Maltosa

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{4,69 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mL}}{60 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\ &= \frac{4,69 \mu\text{mol}}{10800 \text{ mL.menit}} = 0,4343 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit} \end{aligned}$$

Laktosa

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{3,77 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mL}}{60 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\ &= \frac{3,77 \mu\text{mol}}{10800 \text{ mL.menit}} = 0,3491 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit} \end{aligned}$$

Galaktosa

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{83,93 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mL}}{60 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\ &= \frac{83,93 \mu\text{mol}}{10800 \text{ mL.menit}} = 7,7713 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit} \end{aligned}$$

CMC

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} &= \frac{3,37 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}}{180 \text{ mg/mmol}} \times \frac{1}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mL}}{60 \text{ menit}} \times 1000 \mu\text{mol/mmol} \\ &= \frac{3,37 \mu\text{mol}}{10800 \text{ mL.menit}} = 0,3120 \times 10^{-3} \mu\text{mol/mL.menit} \end{aligned}$$

Lampiran 9. Pembuatan Larutan Standar

Konsentrasi standar : 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm

a. Pembuatan larutan induk 1000 ppm

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$1000 \text{ ppm} = \text{mg/L}$$

$$\text{mg} = 1000 \text{ ppm} \cdot 0,1 \text{ L}$$

$$\text{gram} = 0,1 \text{ gram}$$

b. Pembuatan larutan baku 100 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 250 \text{ mL} \cdot 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{25000}{1000} \text{ mL} = 250 \text{ mL}$$

c. Pembuatan larutan standar

Standar 10 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 50 \text{ mL} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{500}{100} \text{ mL} = 5 \text{ mL}$$

Standar 20 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 50 \text{ mL} \cdot 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{1000}{100} \text{ mL} = 10 \text{ mL}$$

Standar 40 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 50 \text{ mL} \cdot 40 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{2000}{100} \text{ mL} = 20 \text{ mL}$$

Standar 60 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 50 \text{ mL} \cdot 60 \text{ ppm}$$

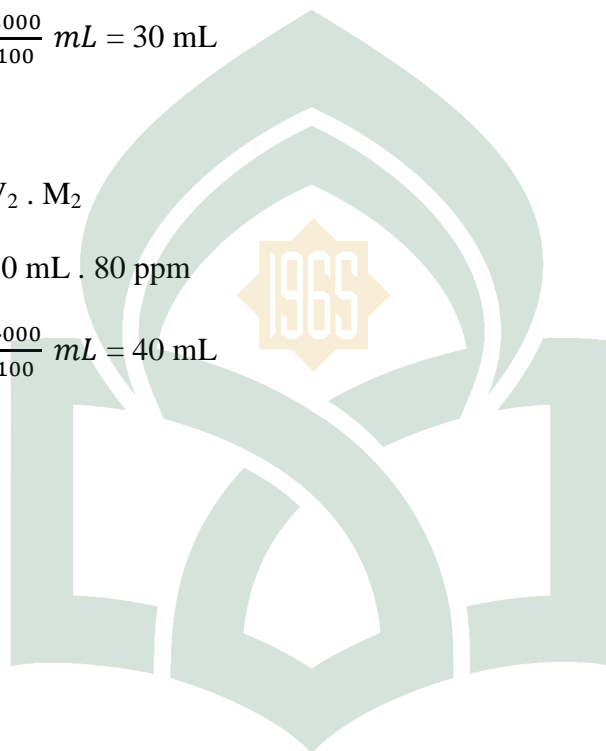
$$V_1 = \frac{3000}{100} \text{ mL} = 30 \text{ mL}$$

Standar 80 ppm

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \text{ ppm} = 50 \text{ mL} \cdot 80 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{4000}{100} \text{ mL} = 40 \text{ mL}$$



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

Lampiran 10. Penentuan Glukosa dengan Metode Nelson-Somogy

Pereaksi :

1. Pembuatan Reagen Arsenomolibdat

a. Larutan A

Larutan A merupakan larutan yang dibuat dari pencampuran 12,5 gram amonium molibdat dan 225 mL aquades dalam erlenmeyer 250 mL. Larutan kemudian ditambahkan 12,5 mL asam sulfat pekat.

b. Larutan B

Larutan B terdiri dari pencampuran 1,5 gram dinatrium hidrogen arsenat heptahidrat dalam 12,5 mL aquades.

Ket : Larutan B dituang ke dalam larutan A dan disimpan dalam botol gelap. Reagen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2. Pembuatan Reagen Nelson

a. Larutan A

Pada pembuatan larutan A yakni dengan pencampuran antara 2,5 gram Na-K-tartrat; 2,5 gram natrium karbonat; 2 gram natrium hidrogen karbonat dan 20 gram natrium sulfat, kemudian pelarutan dilakukan sampai volume 100 mL.

b. Larutan B

Pada pembuatan larutan B yakni pelarutan 3,25 gram tembaga sulfat dalam 25 mL aquades, dilakukan penambahan satu tetes asam sulfat pekat.

Ket : 25 mL larutan A + 1 mL larutan B (pencampuran larutan dilakukan pada saat akan digunakan).



Lampiran 11. Pembuatan Pereaksi

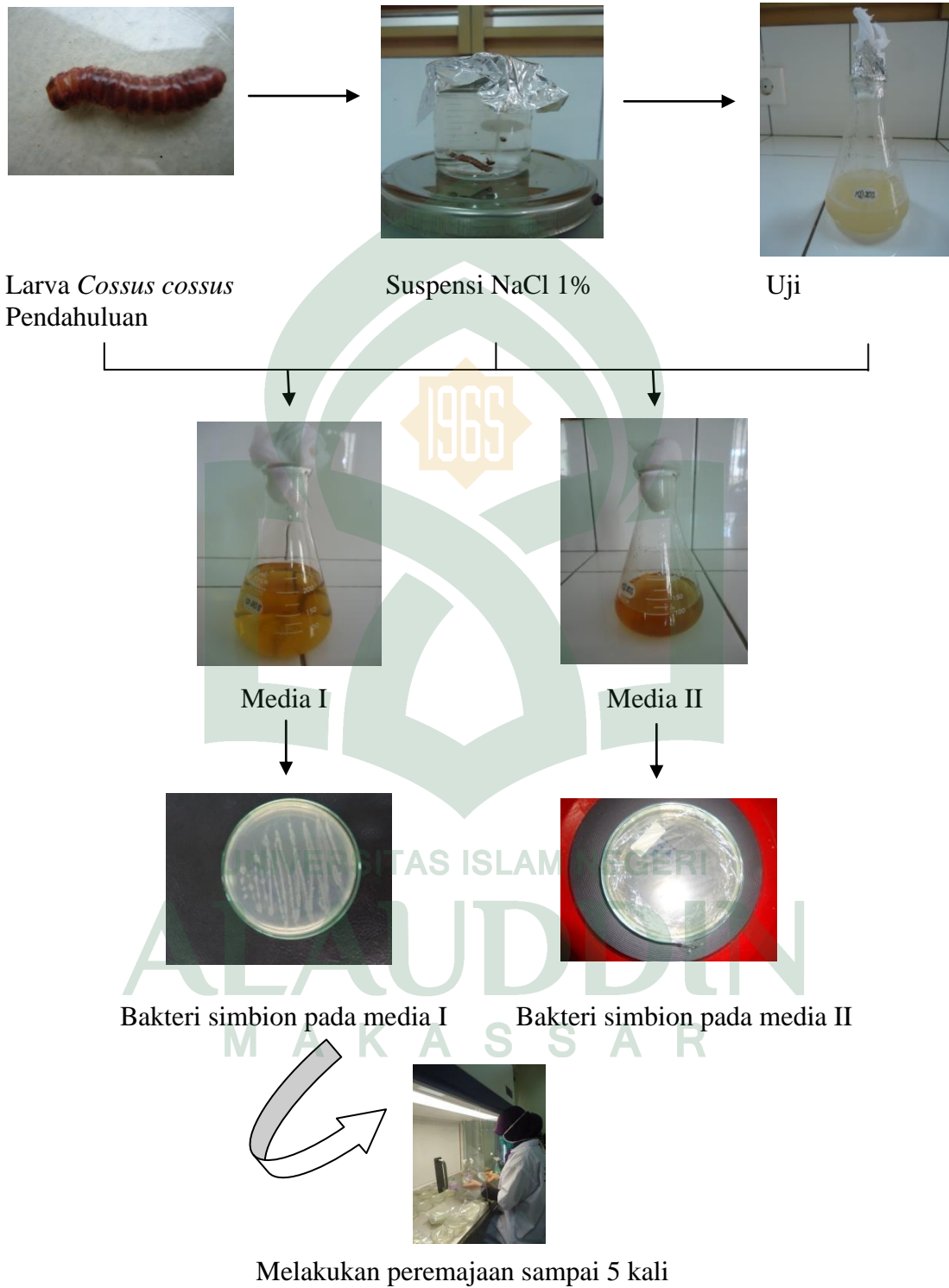
1. Congo red 0,1%

- a. Menimbang 0,1 gram congo red.
- b. Memasukkan ke dalam gelas kimia dan melarutkannya dengan aquades.
- c. Memindahkan ke dalam labu takar 100 mL, mengimpitkan sampai tanda batas dan menghomogenkan larutan.

2. Buffer sitrat pH 5,8

- a. Menimbang 0,96 gram asam sitrat, kemudian melarutkannya dalam labu takar 50 mL untuk membuat larutan asam sitrat 0,1 M.
- b. Menimbang 1,065 gram natrium sitrat, kemudian melarutkannya dalam labu takar 50 mL.
- c. Memipet 10 mL larutan asam sitrat dan memasukkannya ke dalam gelas kimia, menambahkan 1 mL larutan natrium sitrat sampai larutan buffer menunjukkan pH 5,8.

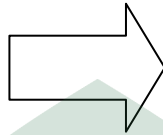
Lampiran 12. Isolasi Bakteri Simbion



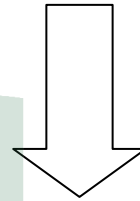
Lampiran 13. Uji Congo Red



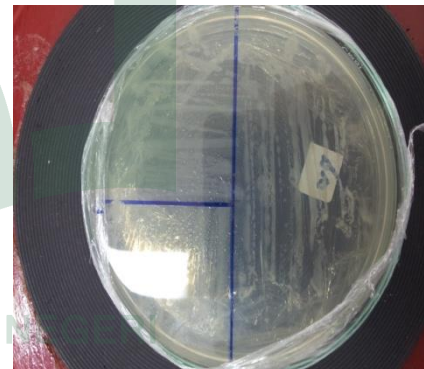
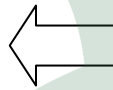
Pembuatan suspensi NaCl 1%



Pembuatan media



Hasil uji dengan congo red



Bakteri simbion pada media

Lampiran 14. Uji Aktivitas Enzim Selulase





RIWAYAT HIDUP



Faradillah Dwi Arhany lahir di Malino pada tanggal 28 Agustus 1991, merupakan anak kedua dari empat bersaudara pasangan Bapak Abdullah Amiruddin dan Ibu Rahmadani, SP.. Penyusun menamatkan pendidikan di SD Inpres Tetebaru pada tahun 2003, SMPN 1 Sungguminasa pada tahun 2006 dan SMAN 1 Sungguminasa pada tahun 2009. Pada tahun yang sama penyusun melanjutkan pendidikan ke jenjang lebih tinggi dan mengambil program Strata 1 (S1) Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi di Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar. Selama menjadi mahasiswa, penyusun pernah menjabat sebagai sekretaris periode 2011-2012 dan wakil ketua periode 2012-2013 di Himpunan Mahasiswa Jurusan (HMJ) Kimia serta anggota divisi biokimia Ikatan Himpunan Mahasiswa Kimia Indonesia (IKAHIMKI) tahun 2013. Penyusun juga menjadi asisten laboratorium di jurusan kimia UIN Alauddin Makassar sejak tahun 2010, selain itu penyusun sempat menjadi salah satu staf pengajar private di Al-Fattah Private Course. Penyusun melakukan Praktek Kerja Lapangan (PKL) di ANTAM pada tahun 2012 dan Kuliah Kerja Nyata (KKN) – Profesi di Kelurahan Samata pada tahun yang sama. Terakhir, penyusun menyelesaikan seluruh rangkaian perkuliahan dengan menyusun skripsi yang berjudul “Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri Simbion yang Dihasilkan oleh Larva *Cossus cossus* dengan Variasi Sumber Karbon”.